

Alberto Trapani Júnior

**USO DO INIBIDOR DA FOSFODIESTERASE TIPO 5, CITRATO
DE SILDENAFIL, PARA TRATAMENTO DA PRÉ-ECLAMPSIA:
ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO CEGO, PLACEBO
CONTROLADO DA RESPOSTA HEMODINÂMICA E DOS
RESULTADOS PERINATAIS**

Tese submetida ao Programa de
Pós-graduação em Ciências
Médicas da Universidade Federal
de Santa Catarina, para a
obtenção do Grau de Doutor em
Ciências Médicas.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Maria Marlene de Souza
Pires

Florianópolis
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Trapani, Alberto, Jr
USO DO INIBIDOR DA FOSFODIESTERASE TIPO 5, CITRATO DE
SILDENAFIL, PARA TRATAMENTO DA PRÉ-ECLAMPSIA : ESTUDO
CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO CEGO, PLACEBO CONTROLADO DA
RESPOSTA HEMODINÂMICA E DOS RESULTADOS PERINATAIS /
Alberto, Jr Trapani ; orientadora, Maria Marlene de Souza
Pires - Florianópolis, SC, 2016.
120 p.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós
Graduação em Ciências Médicas.

Inclui referências

1. Ciências Médicas. 2. Pré-eclampsia. 3. Citrato de
Sildenafil. 4. Inibidores da fosfodiesterase. 5. Doppler.
I. Pires, Maria Marlene de Souza . II. Universidade
Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas. III. Título.

ALBERTO TRAPANI JÚNIOR

“USO DO INIBIDOR DA FOSFODIESTERASE TIPO 5, CITRATO DE SILDENAFIL, PARA TRATAMENTO DA PRÉ-ECLAMPSIA: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO, DUPLO CEGO, PLACEBO CONTROLADO DA RESPOSTA HEMODINÂMICA E DOS RESULTADOS PERINATAIS”

Esta tese foi submetida ao processo de avaliação pela Banca Examinadora para obtenção do título de:

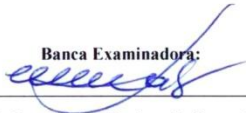
DOCTOR EM CIÊNCIAS MÉDICAS

E aprovado em 29 de fevereiro de 2016, atendendo as normas da legislação vigente da Universidade Federal de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Área de Concentração: **Investigação Clínica**.



Prof. Dr. Alexandre Sherley Casimiro Onofre
Coordenador do Programa

Banca Examinadora:



Profa. Dra. Maria Marlene de Souza Pires
Presidente/Orientadora



Profa. Dra. Roxana Knobel

Membro



Prof. Dr. Sérgio Murilo Steffens

Membro



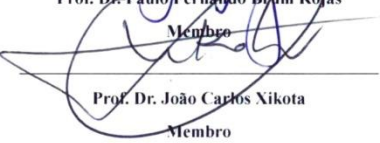
Prof. Dr. Eyaldo Dos Santos

Membro



Prof. Dr. Paulo Fernando Brum Rojas

Membro



Prof. Dr. João Carlos Nikota

Florianópolis, 2016

Este trabalho é dedicado a minha esposa Tânia e aos nossos filhos Vinícius, Thamyris e Vitória. Pela paciência e o amor incondicionais.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Maria Edite e Alberto (*in memoriam*), por, além do carinho e amor, não medirem esforços, mesmo nas dificuldades, para minha educação.

À professora, e minha orientadora, Maria Marlene de Souza Pires, por todo apoio, orientação e, principalmente, confiança.

A todos os colegas do serviço, por possibilitarem a realização do trabalho, em especial a Dra. Maria Salete Medeiros Vieira, Dr. Sérgio Murillo Steffens, Dra. Leisa Beatriz Grando, Dra. Karine Da Corrêgio, Dr. Mário Júlio Franco, Dr. Roberto Noya Galuzzo Noya, Dr. Flávio Luiz Vieira, Dra. Sheila Koettker Silveira, Dr. Otto Henrique May Feuerschutte, Dr. Paulo Freitas Sr. Alécio Carminatti Jr e Sra. Sônia Regina Alves.

Ao serviço de Farmácia do HU/UFSC, em especial a Simone Vieira e a Marilen Pires Ferreira, por todo o suporte, na compra, preparo e controle na medicação, bem como a atuação como núcleo de segurança e randomização.

Ao colega e amigo, Dr. Luis Fávio Gonçalves, pelo auxílio inestimável no preparo e submissão das publicações.

Aos colegas da enfermaria de alto risco do Hospital Regional Homero de Miranda Gomes, pelo encaminhamento de muitas pacientes, sem o qual, não terminaríamos o trabalho em tempo.

Ao Dr. Jorge Abi Saab Neto, diretor do Departamento e eterno mestre, que contribuiu muito para despertar o amor ao estudo da gestação de alto risco, em especial a pré-eclâmpsia.

A Direção do HU/UFSC, em especial ao Diretor Dr. Carlos Alberto Justo da Silva, a Dra. Heda Mara Schmidt e a Associação Amigos do HU, pelo apoio a pesquisa e a compra dos medicamentos.

.

*“To avoid criticism
Say nothing
Do nothing
Be nothing”*

(Aristóteles, 384-322ac)

RESUMO

Objetivo: Avaliar se o uso do inibidor da fosfodiesterase tipo 5, citrato de sildenafil, em mulheres com pré-eclampsia melhora os resultados perinatais e hemodinâmicos.

Método: Mulheres com pré-eclampsia, com idade gestacional entre 24 a 33 semanas, foram randomizadas em dois grupos. O primeiro recebeu citrato de sildenafil 50mg de 8 em 8 horas via oral e o segundo grupo placebo. Os desfechos avaliados foram o tempo entre a randomização e o parto, dopplervelocimetria materno-fetal, os eventos adversos maternos e os resultados neonatais. Os dados foram avaliados pela intenção de tratar.

Resultados: Das 100 mulheres, 50 foram alocadas para cada grupo. O grupo que recebeu sildenafil teve uma média de 4,01 dias a mais de prolongamento da gravidez (sildenafil 14,40 IC12,50-16,59 e placebo 10,39 IC8,35-12,32, $p=0,008$). Houve uma significativa redução do índice de pulsatividade das artérias uterinas e umbilicais (22,5% e 18,5%, respectivamente, $p<0,001$) com o sildenafil, bem como um melhor controle da pressão arterial (PAM reduziu de $116,4\pm5,1$ mmHg para $100,3\pm5,6$ mmHg, $p<0,05$). Não houve diferença nos resultados perinatais (morbidade e mortalidade) com o uso do sildenafil. Não houve diferenças nos efeitos adversos entre o sildenafil e o placebo.

Conclusão: O citrato de sildenafil foi bem tolerado, aumentou o tempo de gravidez, melhorou o controle da pressão arterial e do fluxo sanguíneo materno-fetal. Contudo, não foi possível determinar a melhora dos resultados perinatais.

Palavras-chave: Pré-eclampsia. Citrato de sildenafil. Inibidores da fosfodiesterase. Doppler.

ABSTRACT

Objective: To evaluate if therapy with sildenafil citrate in women with preeclampsia improves hemodynamic status and perinatal outcomes.

Material and methods: 100 singleton pregnancies diagnosed with preeclampsia between 24 and 33 weeks were randomized into two groups. The first group was allocated to oral sildenafil citrate 50 mg every 8 hours and the second group to placebo. Study outcomes included the time elapsed between randomization and delivery, changes in resistance indices of uterine, umbilical and middle cerebral arteries by Doppler velocimetry, maternal and neonatal outcomes adverse events. Data analysis was based on intention to treat.

Results: 50 patients were randomized to each group. Time between randomization and delivery was on average 4 days longer for the group treated with sildenafil (sildenafil: 14.4 days, 95% CI 12.5-16.6 days vs. placebo: 10.4 days, 95% CI 8.4-12.3 days, $p = 0,008$). Regarding Doppler velocimetry, treatment with sildenafil was associated with a significant reduction in the pulsatility index of uterine and umbilical arteries (22.5% and 18,5%, respectively, $P < 0.001$). Maternal blood pressure control was also better with sildenafil (the mean arterial blood pressure decreased from 116.4 ± 5.1 mmHg to 100.3 ± 5.6 mmHg, $P < 0.05$). There was no difference in perinatal morbidity and mortality and was also no difference in the rate of adverse effects between the two groups.

Conclusion: Therapy with sildenafil citrate for women with preeclampsia was associated with pregnancy prolongation of approximately 4 days compared to placebo. Patients receiving sildenafil also experienced improved blood pressure control as well as decreased resistance to blood flow in the uteroplacental and fetal circulations. However, no difference in perinatal outcome was noted in this study.

Keywords: Preeclampsia. Sildenafil Citrate. Phosphodiesterase Inhibitors. Doppler.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fisiopatologia da PE em dois estágios.....	26
Figura 2: Modificação da placentação na pré-eclampsia.....	28
Figura 3: Imagem em corte das artérias espiraladas.....	29
Figura 4: Visão geral dos mecanismos de ação dos doadores de óxido nítrico (ON) e drogas afins.....	31
Figura 5: Esquema da randomização.....	43
Figura 6: Fluxograma do progresso do estudo.....	49
Figura 7: Tempo entre a randomização e o nascimento.....	52

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Famílias das Fosfodiesterases.....	34
Quadro 2. Estudos <i>in vitro</i>	35
Quadro 3. Estudos em modelos animais.....	36

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características basais e demográficas no momento da randomização	50
Tabela 2	Indicações para a interrupção da gravidez	51
Tabela 3	Comparação do IP obtido antes e 24hs após a administração de CS ou placebo	53
Tabela 4	Comparação do Z-score do IP obtido antes e 24hs após a administração de CS ou placebo ..	53
Tabela 5	Comparação da PAM obtida antes e após a administração do CS ou placebo	53
Tabela 6	Eventos adversos maternos	54
Tabela 7	Comparação dos resultados no recém nato	55
Tabela 8	Comparação entre os eventos adversos neonatais do presente estudo, com o de Samangaya et al	61
Tabela 9	Comparação entre os eventos adversos neonatais do presente estudo, com autores que estudaram a conduta expectante em PE	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACM	Artéria Cerebral Média
AIT	Análise de Intenção de Tratar
AMPc	Adenosina monofosfato cíclica
ANOVA	Análise de Variância
CIUR	Crescimento intra uterino restrito
cm	Centímetros
CS	Citrato de sildenafil
DP	Desvio Padrão
DPP	Descolamento Prematuro de Placenta
EDRF	Fator dilatador derivado do endotélio
EN	Enterocolite Necrosante.
eNOS	Oxido nítrico sintetase endotelial
et al.	E outros
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FEBRASGO	Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia
g/dia	Gramas por dia
GMP	Guanosina monofosfato
GMPc	Guanosina monofosfato cíclico
GSNO	S-nitrosoglutathione
GTP	Trifosfato de guanosina
HELLP	<i>Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count</i>
HI,	hemorragia intra-ventricular
hs	Horas
HU	Hospital Universitário
IC	Intervalo de confiança
ILA	Índice de Líquido Amniótico
IM	Intra-muscular
IMC	índice de massa corporal
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
IP	índice de pulsatividade
ISUOG	<i>International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology</i>
L/h	Litros por hora
MBV	Maior Bolsão Vertical

mg	Miligramas
MHz	Mega Hertz
mmHg	Milímetros de mercúrio
n=	Número de casos
ng/mL	Nanogramas por mililitros
NI	Não informado
NK	<i>Natural Killer</i>
NTG	Nitroglicerina ou trinitrato de glicerina
ON	Óxido nítrico
p=	Valor-p
PA	Pressão arterial
PAD:	Pressão arterial diastólica
PAM	Pressão arterial média
PAS:	Pressão arterial sistólica
PDE	Fosfodiesterase
PE	Pré-eclampsia
PIGF	Fator de crescimento placentário
REBEC	Registros Brasileiros de Ensaio Clínicos
SDR	Síndrome do Desconforto Respiratório
sem	Semanas
sEng	Endoglina solúvel
sFlt-1	Fator solúvel <i>fms-like tyrosine kinase-1</i>
sGC	Guanilato ciclase solúvel
SISNEP	Sistema Nacional de Informação sobre Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos
SP	São Paulo
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
STRIDER	<i>Sildenafil Therapy In Dismal prognosis Early-onset intrauterine growth Restriction</i>
TCP	Trombocitopenia
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UN	Unidade neonatal
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VEGF	Fator de crescimento do endotélio vascular
χ^2	Chi-quadrado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
1.1 PRÉ-ECLAMPSIA – CONCEITOS E FISIOPATOLOGIA ..	25
1.1.1 Tolerância materna inadequada aos antígenos fetais e paternos.....	26
1.1.2 Desenvolvimento anormal da placenta	27
1.1.3 Hipoperfusão placentária	29
1.1.4 Disfunção endotelial sistêmica	30
1.1.5 Óxido Nítrico	30
1.2 BASES DO TRATAMENTO DA PRÉ-ECLAMPSIA	31
1.2.1 Fosfodiesterases	33
1.2.2 Inibidores da PDE5 e pré-eclampsia	35
1.2.3 Citrato de Sildenafil em CIUR	37
1.3 RAZÕES DA PROPOSTA DA PESQUISA	38
1.4 HIPÓTESE	38
2. OBJETIVOS	39
2.1 OBJETIVO GERAL	39
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
3. METODOLOGIA	41
3.1 DESENHO	41
3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO	41
3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	41
3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	42
3.5 CÁLCULO DA AMOSTRA	42
3.6 RANDOMIZAÇÃO	43
3.7 PROCEDIMENTOS	44
3.7.1 Interrupção da gravidez	44
3.7.2 Avaliação da pressão arterial	45
3.7.3 Dopplervelocimetria	45
3.7.4 Exames laboratoriais básicos	46
3.7.5 Medicamentos	46
3.7.6 Avaliação neonatal	47
3.7.7 Análise de dados	47
3.7.8 Aspectos de segurança	47
4. RESULTADOS	49
4.1 PARTICIPANTES	49
4.2 RESULTADOS CLÍNICOS	50
4.3 RESULTADOS HEMODINÂMICOS	52

4.4 TOLERÂNCIA	54
4.5 RESULTADOS NEONATAIS	55
5. DISCUSSÃO	57
5.1 ASPECTOS CLÍNICOS	57
5.2 ASPECTOS HEMODINÂMICOS	58
5.3 TOLERÂNCIA	59
5.4 RESULTADOS NEONATAIS	60
5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
6. CONCLUSÕES	63
6.1 RESPOSTA A HIPÓTESE DA PESQUISA	63
7. APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS	65
REFERÊNCIAS	67
APÊNDICE A – Artigo 1 Publicado em <i>Ultrasound in Obstetrics & Gynecology</i> 2011.....	79
APÊNDICE B – Artigo 2 Publicado em <i>Ultrasound in Obstetrics & Gynecology</i> 2015.	85
APÊNDICE C – Artigo 3 Submetido para <i>Obstetrics & Gynecology</i>	113
APÊNDICE D – Termo de consentimento livre e esclarecido ..	115
ANEXO A – Aprovação do comitê de ética	117

1 INTRODUÇÃO

1.1 PRÉ-ECLAMPSIA – CONCEITOS E FISIOPATOLOGIA

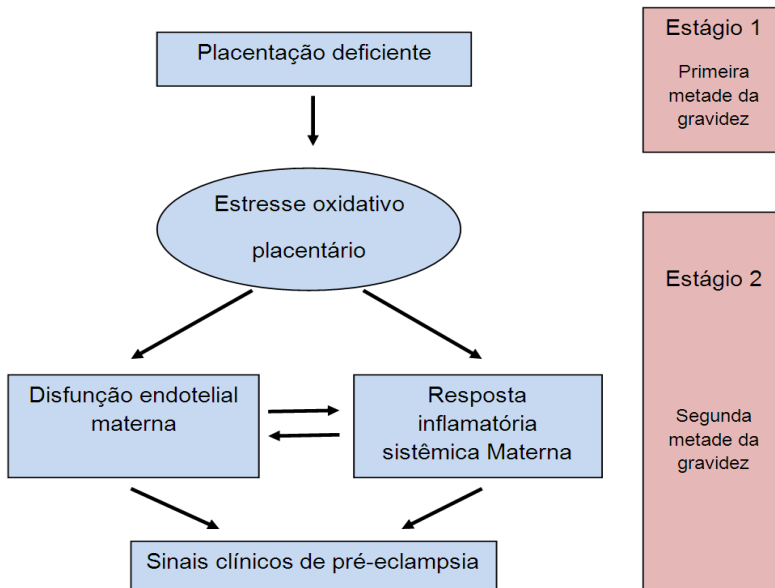
A Pré-eclampsia (PE) é uma síndrome caracterizada clinicamente pelo aparecimento de hipertensão arterial após as 20 semanas de gestação, acompanhada de proteinúria ou disfunção de órgãos-alvo.^{1,2} Embora na maioria dos casos os resultados maternos e fetais sejam bons, existe um risco aumentado de mortalidade materna e/ou fetal ou morbidade grave (oscilando entre 5 a 20%).³ A PE encontra-se entre as principais causas de morte materna no Brasil e a terceira causa no mundo. Muitas de suas consequências em longo prazo ainda são desconhecidas.³

É estimado que a PE ocorra em 4,6% (IC 95% 2,7-8,2) das gestações.⁴ A prevalência varia, além de questões étnicas, de acordo com as diferenças na distribuição por idade materna e proporção de mulheres primíparas.⁵

Sua fisiopatologia, principalmente a fase inicial, não é completamente conhecida. A presença da placenta parece ser fundamental para a ocorrência da PE, tendo em vista que sua dequitação é o único mecanismo efetivo para a resolução do problema, que inclusive já foi identificado em gestações sem feto, como na mola hidatiforme.⁶

Em 2005, foi proposto o modelo de dois estágios para a PE.⁷ O primeiro estágio, considerado subclínico, com envolvimento de placentação deficiente. No segundo, em decorrência da disfunção endotelial e da resposta inflamatória sistêmica, ocorre em presença de sintomas e sinais clínicos.⁷

Figura 1: Fisiopatologia da PE em dois estágios



Fonte: adaptado de REDMAN et al.⁷

1.1.1 Tolerância materna inadequada aos antígenos fetais e paternos

Na gestação normal existem diversos mecanismos de imunomodulação que desencadeiam processo de tolerância imunológica.⁸ Os tecidos de origem fetal não são rejeitados pelo sistema imune materno, permitindo a invasão das células trofoblásticas, inclusive nas artérias espiraladas, e a formação de interface materno-fetal saudável.⁸

Uma das hipóteses para a origem da PE é uma alteração neste sistema de imunorregulação. Alguns dados epidemiológicos são sugestivos da teoria imunológica. A exposição prévia aos antígenos paternos e/ou fetais parece proteger contra a PE.⁶ Menor exposição aos antígenos paternos, como no maior intervalo entre as gestações, nuliparidade, mudança de parceiros, uso de preservativos e concepção por

injeção intracitoplasmática de espermatozóide, aumentam o risco de PE.⁶

O estudo das placentas de mulheres com PE tem evidenciado alterações imunológicas semelhantes às encontradas nas rejeições de órgãos transplantados,⁹ como um aumento da atividade das células NK (*natural killer*), bem como um aumento da infiltração das células dendríticas, que são iniciadoras das respostas das células T aos antígenos incompatíveis.¹⁰

Um aumento da sensibilidade à angiotensina II foi descrita na PE. As pacientes têm níveis aumentados de anticorpos agonistas aos receptores da angiotensina, que aumentam sua ativação, podendo determinar hipertensão e lesão vascular. Mecanismo este, que inclusive tem sido utilizado para induzir a PE em modelos animais.^{11,12}

Diversos genes potencialmente significativos para a PE tem sido estudados, mas os resultados ainda não são conclusivos.⁶

Outros dados epidemiológicos demonstram a importância dos fatores genéticos: mulheres que tiveram PE em gestação anterior tem risco sete vezes maior de repetir o quadro;¹³ primigesta com história familiar (mãe ou irmã) tem risco de duas a cinco vezes maior;^{6,14} e quando o parceiro foi produto de uma gestação com PE, ou sua conjuge anterior que teve PE, existe também aumento do risco.¹⁵

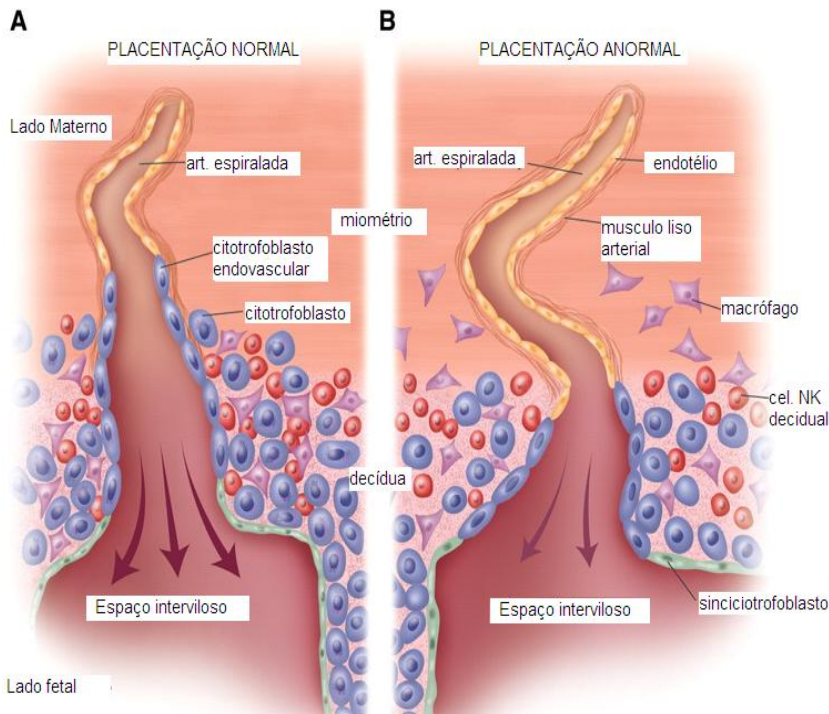
1.1.2 Desenvolvimento anormal da placenta

Na gestação normal, existem modificações para que se produza uma circulação placentária de baixa resistência, resultando em um sistema circulatório materno-fetal de alto fluxo.¹⁶ As células do citotrofoblasto em desenvolvimento migram pela decídua e miométrio, para invadir a túnica média e o endotélio das artérias espiraladas. Como resultado, as pequenas arteríolas se transformam em grandes vasos de baixa resistência. Esta remodelação inicia no primeiro trimestre e é completada por volta de 20 a 24 semanas de gestação.⁶

Na PE as células do citotrofoblasto penetram mais superficialmente, portanto a modificação das artérias espiraladas

é incompleta e elas permanecem estreitas, resultando em alta resistência e hipoperfusão placentária.¹⁷ Estas alterações vasculares profundas são relacionadas a vários desfechos desfavoráveis na gestação, além da PE, como o descolamento prematuro de placenta, a restrição do crescimento fetal intra-uterino, infarto placentário, óbito fetal, rotura prematura de membranas e trabalho de parto prematuro.¹⁸

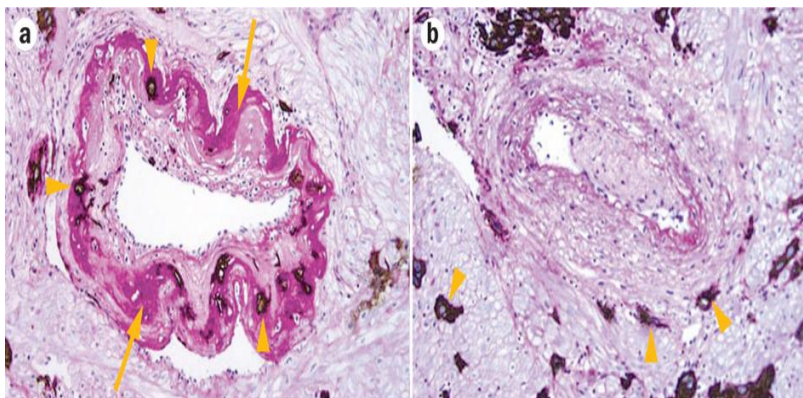
Figura 2: Modificação da placentação na pré-eclampsia.



A Na gestação normal. **B** Na pré-eclampsia.

Fonte: adaptado de REDMAN et. al.⁷

Figura 3: Imagem em corte das artérias espiraladas



a: Artéria transformada, com citotrofoblasto intramurais (assinalado) e degenerações fibrinóides (seta).

b: Artéria não transformada, com o citotrofoblasto no miométrio (assinalado). Corado com citoqueratina 7 e ácido de Schiff.

Fonte: ESPINOZA, et al.¹⁹

1.1.3 Hipoperfusão placentária

A hipoperfusão placentária tem sido relatada tanto como causa, como consequência da placentação defeituosa. Algumas situações em que existe aumento da massa placentária estão associadas a maior risco de PE, como a gemelaridade, diabetes mellitus, hidropsia fetal e gestação molar. Também em situações de insuficiência vascular temos o aumento do risco, como no lúpus eritematoso sistêmico, trombofilias, doença renal, hipertensão sistêmica e diabetes grave.²⁰

Portanto a hipoperfusão, hipóxia e isquemia da placenta são componentes críticos na PE e podem ser desencadeados pela placentação defeituosa, aumento da massa placentária ou pela insuficiência vascular sistêmica. Neste processo acontece a produção de fatores inflamatórios e disfunção endotelial, que tanto local, quanto sistemicamente, vai determinar os sinais e sintomas da doença.⁶

1.1.4 Disfunção endotelial sistêmica

A disfunção endotelial sistêmica explica todo o quadro clínico da PE. Esta disfunção é comprovada, tanto pela modificação da produção dos fatores endoteliais, tanto pela alteração da medida da dilatação da artéria braquial fluxo-mediada.²¹

Existe um aumento de fatores vasoconstrictores, como as endotelinas e tromboxano e uma diminuição dos fatores vasodilatadores, como prostaciclina e o óxido nítrico.²¹

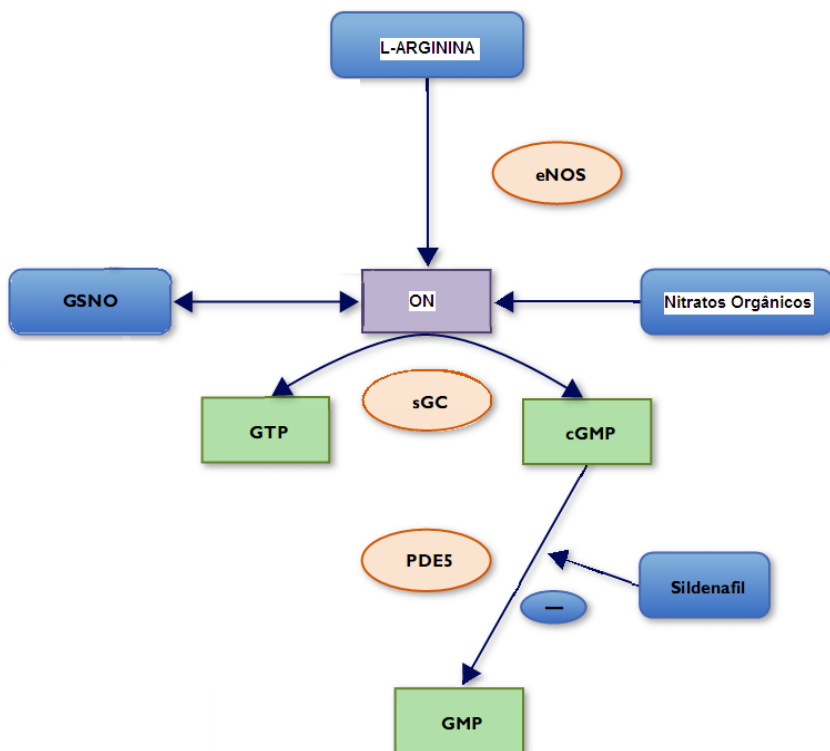
O processo de placentação normal exige uma extensa angiogênese. Vários produtos pró-angiogênicos, como o fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e o fator de crescimento placentário (PIGF) são produzidos. Também existem os fatores antiangiogênicos, como o fator solúvel *fms-like tyrosine kinase-1* (sFlt-1). Na PE existe um desequilíbrio, como aumento dos fatores antiangiogênicos.^{6,22}

A endoglina solúvel (sEng) é um fator antiangiogênico, produzido no endotélio e no sinciciotrofoblasto, que parece ser importante na PE, pois aumenta a permeabilidade vascular e induz a hipertensão. Está aumentada em dois a três meses antes dos sintomas da PE e correlaciona-se com a gravidade do quadro.^{22,23}

1.1.5 Óxido Nítrico

Estudos in vitro e in vivo fornecem informações que o óxido nítrico (ON) desempenha um papel importante na regulação do tônus vascular e na perfusão placentária durante a gravidez.^{24,25} Ele já foi chamado de fator dilatador derivado do endotélio (*endothelium-derived relaxing factor* ou EDRF). Origina-se do metabolismo da L-arginina nas células endoteliais. Se difunde livremente para as células do músculo liso vascular e ativa a enzima guanilato ciclase, que catalisa a conversão da guanosina trifosfato para guanosina monofosfato (GMP) cíclico. Isto leva a um efeito vasodilatador cálcio mediado.²⁶ Ele também é um inibidor da agregação plaquetária, da proliferação de células musculares lisas dos vasos e das células ativadoras de inflamação.²⁷

Figura 4: Visão geral dos mecanismos de ação dos doadores de óxido nítrico (ON) e drogas afins.



Abreviaturas: GTP, trifosfato de guanossina; GMPc, guanossina 3'- 5'-monofosfato; eNOS, óxido nítrico sintetase endotelial; GSNO, S-nitrosoglutatona; PDE5, fosfodiesterase 5; sGC, guanilato ciclase solúvel.

Fonte: Adaptado de JOHAL et al.²⁷

1.2 BASES DO TRATAMENTO DA PRÉ-ECLAMPSIA

Com base na importância da via do ON na fisiopatologia da PE, várias substâncias tem sido estudadas para seu tratamento.

A **nitroglicerina ou trinitrato de glicerina (NTG)** é um potente vasodilatador, usado há mais de 120 anos para o tratamento da angina pectoris e, mais recentemente, nas fases

aguda e crônica do infarto do miocárdio e na insuficiência cardíaca congestiva. A partir de uma perspectiva farmacológica, a NTG é considerado uma pró-droga, já que o óxido nítrico é gerado no local de ação.²⁸ Na gravidez, a NTG tem sido indicada em várias situações: inibição do trabalho de parto prematuro,²⁹ profilaxia da pré-eclampsia,³⁰ retardo de crescimento intra-uterino^{31,32} e controle da pressão arterial na pré-eclampsia.³³ A tolerância, atenuação ou perda de seu efeito terapêutico, é a principal limitação da eficácia clínica, sendo observada até 12 a 24 horas após o início do uso. Alguns mecanismos foram propostos para atenuar este efeito, como a administração intermitente ou adesivos de liberação crescente.^{34,35} Outro fator limitante é a cefaleia.^{30,33}

S-nitrosotióis são uma classe de compostos que têm um grupo de ON ligado à porção tiol por uma única ligação química. Como eles libertam o ON por vários mecanismos, não são susceptíveis a tolerância.³⁶ Também possuem uma maior duração de ação que o ON. O S-nitrosotiol que tem sido investigado em mulheres com pré-eclâmpsia é o S-nitrosoglutationa (GSNO). Não está atualmente em uso clínico, mas tem sido o foco de investigação para o seu papel terapêutico em uma variedade de condições, incluindo a pré-eclampsia, distúrbios cardiovasculares e cerebrovasculares e na fibrose cística. Os efeitos da GSNO são tecidos específicos. Uma redução significativa na agregação plaquetária e dos fatores de inflamação endotelial foram demonstrados em pequenos estudos. Faltam estudos demonstrando melhora nos desfechos clínicos.²⁷

A **L-Arginina** atua como um precursor do ON e tem sido o foco de estudos destinados a investigar o seu papel preventivo em mulheres com alto risco de desenvolver pré-eclampsia. Um estudo com infusão intravenosa de L-arginina em mulheres grávidas mostrou uma redução significativa da pressão arterial; um efeito que foi maior em mulheres com pré-eclâmpsia.³⁷ Um estudo controlado randomizado mostrou que a suplementação dietética com uma combinação de L-arginina e antioxidantes foi associada com uma redução significativa na incidência de pré-eclampsia.³⁸ Estes resultados, no entanto, tem que ser interpretados com cautela, já que os efeitos da L-arginina isolada não foram estudados e no estudo a prevalência de pré-eclampsia recorrente foi muito alta (quase 30%).^{27,38}

1.2.1 Fosfodiesterases

A Fostodiesterase (PDE) é a enzima que quebra uma ligação fosfodiéster, ou seja, uma ligação covalente entre dois grupos hidroxila de um grupo fosfato e duas hidroxilas de outras duas moléculas por uma dupla ligação éster. Hidrolizam os nucleotídeos cíclicos e, assim, desempenham um papel chave na regulação dos níveis intracelulares de adenosina monofosfato cíclica (AMPc) e guanosina monofosfato cíclica (GMPc). São denominadas por um algarismo arábico, que representa sua família. Na espécie humana, até o momento, foram descritas 12 famílias. O Quadro 1 demonstra sua distribuição.^{39,40}

Medicamentos inibidores não seletivos desta enzima, como o teofilina e a papaverina, tem sido utilizados há mais de 70 anos para diversas doenças. Contudo, nos últimos anos, vários inibidores seletivos foram desenvolvidos, como os da família PDE3 para a insuficiência cardíaca congestiva, da PDE4 para doenças inflamatórias das vias aéreas e da PDE5 para a disfunção erétil.³⁹

Nas células do músculo liso vascular o GMPc, que é o agente vasodilatador direto, é degradado pela enzima PDE5, que o transforma em GMP. Portanto, a inibição desta enzima resulta em vasodilatação.¹⁷

O citrato de sildenafil (CS) é o inibidor da PDE5 mais estudado. Ele é rapidamente absorvido na administração oral, atingindo concentrações plasmáticas máximas dentro de 30 a 120 minutos (em média, 60 minutos). A média absoluta da biodisponibilidade oral é 41% (variando entre 25 a 63%). A farmacocinética oral é proporcional no intervalo das doses recomendadas (25 – 100mg) e sofre uma depuração hepática, principalmente pelas isoenzimas microssomais CYP3A4 (via principal) e CYP2C9 (via secundária).⁴¹

O principal metabólito circulante resulta da N-desmetilação. Esse metabólito apresenta um perfil de seletividade para as fosfodiesterases semelhante ao do CS e uma potência de inibição in vitro para a PDE-5 de aproximadamente 50% daquela verificada para a droga inalterada. O clearance total do CS é de 41 L/h, com uma meia-vida terminal de 3-5 horas. Após administração oral ou intravenosa, o CS é excretado sob a forma de metabólitos,

predominantemente nas fezes (aproximadamente 80% da dose oral administrada) e em menor quantidade na urina (aproximadamente 13% da dose oral administrada).⁴¹

Quadro 1. Famílias das Fosfodiesterases.

Tipo	Tecidos	Substrato	Inibidores
1	Coração, cérebro, pulmão, músculo liso.	GMPC AMPC	KS-505a
2	Supra-renais, coração, pulmões, fígado, plaquetas.	GMPC	Eritro-9-2-H-3-nonil adenina
3	Coração, músculos lisos dos vasos sanguíneos, pulmões, fígado, plaquetas, tecido adiposo, leucócitos	GMPC AMPC	Cilostamida, Enoximona, Milrinone, Siguazodan
4	Pulmão, testículos, rins, cérebro, fígado, leucócitos.	AMPC	Rolipram, Roflumilast, Cilomast
5	Músculos lisos dos vasos sanguíneos, pulmão, plaquetas	GMPC	Sildenafil, Tadalafil, Vardenafil
6	Fotoreceptores oculares	GMPC	Dipiridamol
7	Músculo esquelético, o coração, rim, cérebro, pâncreas, linfócitos.	AMPC	BRL-50481 linfócitos
8	Testículos, olhos, fígado, músculo esquelético, rim, coração, ovário, cérebro, linfócitos	AMPC	-
9	Rim, fígado, pulmão, cérebro.	GMPC	BAY 73-6691
10	Testículos, cérebro.	GMPC AMPC	-
11	Músculo esquelético, próstata, rim, fígado, glândula pituitária, glândulas salivares, testículos.	GMPC AMPC	-
12	Mitocôndrias. Resposta anti-viral	AMPC	-

Fonte: Adaptado de BOSWELL-SMITH et al.³⁹

1.2.2 Inibidores da PDE5 e pré-eclampsia

Numa revisão em bases de dados (PubMed, Medline, Web of Science, Lilacs, e Cochrane Library) em busca de estudos sobre o uso inibidores da PDE5 na PE, até janeiro de 2016, foram encontrado 26 artigos, sendo um estudo clínico, sete de revisões, seis estudos *in vitro* e doze de estudos com modelos animais. Quase todos envolviam o CS. Ver quadros 2 e 3.

Quadro 2. Estudos *in vitro*.

Artigo	Conclusões
Wareng et al 2004 ⁴²	Estudou artérias no miométrio dissecadas de gestantes com e sem PE. Verificou que um inibidor da PDE5 (UK-343664, pyrazolopyrimidinones) aumenta a função endotelial de mulheres com PE, de tal modo que o comportamento destas artérias aproxima-se de mulheres normais
Wareng et al 2006 ⁴³	O uso de inibidores da PDE5 (CS ou UK-343664) não alteram o relaxamento dependente do endotélio em artérias omentais ou placentárias dissecadas de mulheres com PE.
Samangaya et al 2011 ⁴⁴	Comparou a vasoconstrição dependente do endotélio dos vasos omentais e miometriais, de mulheres com PE, que receberam ou não o CS durante a gravidez, sendo que não houve diferenças.
Karasu et al 2011 ⁴⁵	Determinou que tanto o CS quanto o vardenafil tem capacidade de vasodilatação na artéria umbilical humana de pacientes com PE, sendo que o vardenafil foi mais significativo.
Karasu et al 2012 ⁴⁶	Resultados indicam que o CS pode afetar a capacidade de resposta vascular da artéria umbilical humana, tanto na via ON e GMPc dependente, quanto na independente.
Kakigano et al 2015 ⁴⁷	Utilizando cultura de células endoteliais da veia umbilical humana, tratadas com sFlt1 e/ou sEng, estudaram 528 drogas com potencial para tratar a PE. O vardenafil foi a única que demonstrou uma significativa capacidade angiogênica (aumento do PiGF).

Fonte: Elaborado pelo autor

Quadro 3. Estudos com modelos animais.

Artigo	Conclusões
Coppage et al 2005 ⁴⁸	Avaliou placentas de ovelhas com PE e determinou que a PDE5 foi expressa apenas no tecido de origem materna. Isto sugere que a regulação dos níveis de GMPc na circulação umbilical difere da circulação uterina.
Turgut et al 2008 ⁴⁹	Estudando ratas com PE induzida, verificou que o CS controla a pressão arterial e diminui a restrição de crescimento das crias. Posteriormente, avaliando a musculatura lisa da aorta, verificou uma resposta positiva com o CS (corrigiu a capacidade de relaxamento).
Cauli et al 2010 ⁵⁰	Demonstrou que a capacidade cognitiva de ratos nascidos de mães com PE está reduzida. Esta perda diminui com a administração de CS durante a gravidez.
Ramesar et al 2010 ⁵¹	Utilizando ratas com PE induzidas, demonstrou que a administração de CS diminuiu a mortalidade fetal, a perda de proteínas urinárias e aumentou o peso das crias.
Ramesar et al 2011 ⁵²	O CS reduziu o nível plasmático de sFlt1 e sEng em ratas com PE induzida.
Nassar et al 2012 ⁵³	O CS não melhorou a restrição de crescimento das crias em ratas com PE induzida, podendo inclusive ter um efeito negativo sobre o peso ao nascer.
Herraiz et al 2012 ⁵⁴	O CS restaurou a pressão arterial normal, contagem de células e proteinúria em ratas com PE. Aumentou o ganho de peso e as taxas de sobrevivência das crias. Diminuiu o índice de resistência na artéria uterina e aumentou a perfusão do feto através do ducto venoso.
Stanley et al 2012 ⁵⁵	O uso do CS resgatou o crescimento fetal e melhorou o fluxo na artéria uterina de camundongos com PE.
George et al 2013 ⁵⁶	O CS diminuiu a pressão arterial em ratas com PE induzida e não afetaram a pressão arterial das ratas normais.
Stanley et al 2015 ⁵⁷	O CS resgatou o crescimento das crias de camundongos com PE e melhorou as formas de onda anormais do Doppler umbilical, ,
Motta et al 2015 ⁵⁸	O CS resgatou o crescimento das crias de camundongos com PE induzida e aumentou a superfície endotelial dos vasos placentários.
Gillis et al 2016 ⁵⁹	CS em ratas com PE controlou a pressão arterial, melhorou a função renal, impediu a proteinúria, diminuiu a reabsorção de crias e reduziu o fator de necrose tumoral- α e a endotelina-1.

Fonte: elaborado pelo autor

O único estudo clínico publicado utilizando inibidores da PDE5 em PE é o de Samangaya et al,⁶⁰ que foi um fase II, randomizado, duplo cego e multicêntrico, realizado no Reino Unido, comparando placebo com o CS. Eles recrutaram 39 gestantes, entre 24 a 34 semanas de idade gestacional, divididas no grupo placebo (n=20) e CS (n=19). O grupo da medicação recebeu doses escalonadas de 20 a 80mg, via oral, de 8/8 horas. O CS foi efetivo para reduzir a pressão arterial, mais não modificou os outros resultados. O tempo de prolongamento médio da gravidez foi de 4 dias(1-15) no grupo CS e 4,5 dias (1-30) no grupo placebo.

Este estudo teve como principais limitações:

- O pequeno número de casos, menor, inclusive, que o tamanho de amostra calculado e programado inicialmente.
- Com o modelo de doses escalonadas, metade das gestantes tiveram sua gestação interrompida enquanto ainda recebiam 20mg de CS de 8/8hs, o que resulta em concentração sérica máxima de 48ng/ml, sendo que nos estudos in vitro, a concentração que resultou em vasodilatação significativa foi em torno de 120ng/ml.⁴²
- Início tardio da medicação (média de 31,4 sem).
- Sendo multicêntrico e com reduzido número de casos, os critérios de interrupção podem não ter sido uniformes.

1.2.3 Citrato de Sildenafil em Crescimento intra uterino restrito (CIUR)

Estudo realizado no HU/UFSC,⁶¹ que comparou CS, nitroglicerina e placebo em casos de CIUR, demonstrou melhora no fluxo das artérias uterinas e umbilicais com o uso do inibidor da PDE5.

Em trabalho, realizado por Dadelszen et al⁶² no Canadá, o CS também foi utilizado em gestantes com restrição de crescimento fetal grave e prematuridade importante. Comparando com o grupo que não utilizou, houve um aumento significativo da circunferência abdominal e da curva de crescimento fetal, sem efeitos colaterais maternos significativos.

Atualmente está em curso um estudo multicêntrico, denominado STRIDER (*Sildenafil Therapy In Dismal prognosis*

Early-onset intrauterine growth Restriction), com o objetivo de comparar o CS com placebo em casos de CIUR de mau prognóstico.⁶³

1.3 RAZÕES DA PROPOSTA DA PESQUISA

A conduta expectante na PE grave, num centro terciário, em gestantes de 24 a 33 semanas está associada a melhores resultados perinatais, com mínimos riscos para a mãe.⁶⁴⁻⁷⁰ A importância de um medicamento para o tratamento da PE é indiscutível, contudo, não temos nenhum fármaco comprovadamente eficaz. Os anti-hipertensivos utilizados são seguros, mas não melhoram diretamente os resultados perinatais.^{1,2,64}

Existem vários estudos sugerindo o CS como um opção válida para o tratamento da PE, tanto por sua ação vasodilatadora,^{45,46,49,54,55,57,59} quanto por atuação no processo de inflamação endotelial.^{47,52,54,58,59} Contudo, necessitamos de um estudo clínico com desenho adequado e número suficiente de casos para comprovar esta possibilidade.

1.4 HIPÓTESE

A hipótese principal é que o CS possa prolongar a duração da gravidez, permitindo melhores resultados perinatais, através de um perfil hemodinâmico favorável e boa tolerabilidade.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a resposta hemodinâmica materna e os resultados perinatais do uso de inibidor da fosfodiesterase tipo 5 (citrato de sildenafil) em gestantes com pré eclampsia, comparando com o placebo.

2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar e comparar o tempo de prolongamento da gravidez nos dois grupos.
2. Verificar e comparar a necessidade de outro(s) anti hipertensivo(s) e/ou o aumento de dose da alfa-metil-dopa nos dois grupos.
3. Avaliar e comparar, com dopplervelocimetria, o efeito do citrato de sildenafil nas artérias uterina, umbilical e cerebral média nos dois grupos
4. Avaliar e comparar a evolução da pressão arterial média nos dois grupos.
5. Relatar e comparar os eventos adversos nos dois grupos.
6. Avaliar e comparar os resultados neonatais nos dois grupos

3. METODOLOGIA

3.1 DESENHO

Ensaio clínico fase 2, randomizado e duplo cego.

3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO

Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, na cidade de Florianópolis, com as pacientes internadas na enfermaria de gravidez de alto risco no período de junho de 2013 a outubro de 2015. Os resultados perinatais foram avaliados no alojamento conjunto, unidade neonatal e ambulatório.

3.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Gestantes, com 18 anos ou mais, entre 24 a 33 semanas, calculadas pela data da última menstruação e/ou por exame de ultrassonografia realizado no primeiro trimestre.

A idade gestacional mínima foi definida pela menor idade viável registrada no hospital do estudo e de acordo com trabalhos sobre a conduta expectante na PE e limite da viabilidade fetal.^{64,65,71}

A idade gestacional máxima foi definida considerando uma semana antes da idade gestacional limite para a conduta expectante em PE grave.⁶⁴⁻⁶⁹

Considerou-se PE, de acordo com os critérios da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO), o aparecimento de hipertensão arterial (PAD ≥ 90 mmHg e/ou PAS ≥ 140 mmHg) em paciente previamente normotensa, após as 20 semanas de gestação, aferidas em duas medidas com intervalo de, pelo menos, 4 horas, associada a proteinúria (>300 mg/24horas).⁷²

Internada a pelo menos 24 horas.

Opção clínica pela conduta expectante, sem previsão de nascimento para as próximas 48hs.

Assinatura do termo de consentimento pós-informado.

3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Gestação gemelar.

Óbito fetal.

Diabetes, hipertensão previa e outras doenças crônicas.

Mal formações fetais graves.

Idade gestacional indefinida.

Pacientes em uso de outro anti-hipertensivo diferente da alfa-metil-dopa.

Alterações de vitalidade fetal que indiquem a interrupção da gravidez (Diástole reversa na artéria umbilical, alteração no ducto venoso, oligoâminio severo, perfil biofísico fetal abaixo de 6).

Alterações maternas que indiquem a interrupção da gravidez, como eclampsia, HELLP síndrome (*Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count*)¹, insuficiência renal grave, hipertensão arterial incontrolável, insuficiência cardíaca, coagulação intravascular disseminada, hematoma ou rotura hepática e encefalopatia.

Paciente em uso de Sulfato de Magnésio, eritromicina, cetoconazol, itraconazol, antiretrovirais ou outros medicamentos que tenham interação com o CS.

Recusa ou incapacidade em assinar o termo de consentimento pós informado.

3.5 CÁLCULO DA AMOSTRA

Baseado em estudos prévios, realizados em hospitais terciários de países em desenvolvimento, avaliando a conduta expectante após o diagnóstico de PE em prematuros^{67,69,70} e para um poder de 90% (alfa 0,05), seriam necessárias 43 pacientes em cada grupo para identificar um ganho de 5 dias na gestação.

Em estudo realizado no HU/UFSC,³³ estudando a nitroglicerina em gestantes com PE, foi detectado uma alteração média de 0,43 (DP 0,13) no índice de pulsatividade da artéria umbilical. Portanto, seriam necessárias 31 pacientes, para alcançar um poder de 90% (alfa 0,05).

Considerando eventuais perdas, foi definido o objetivo de 50 casos consecutivos em cada grupo (total de 100 pacientes).

Os cálculos de tamanho da amostra foram realizados com o programa PASS11(NCSS, LLC. Kaysville, Utah, EUA).

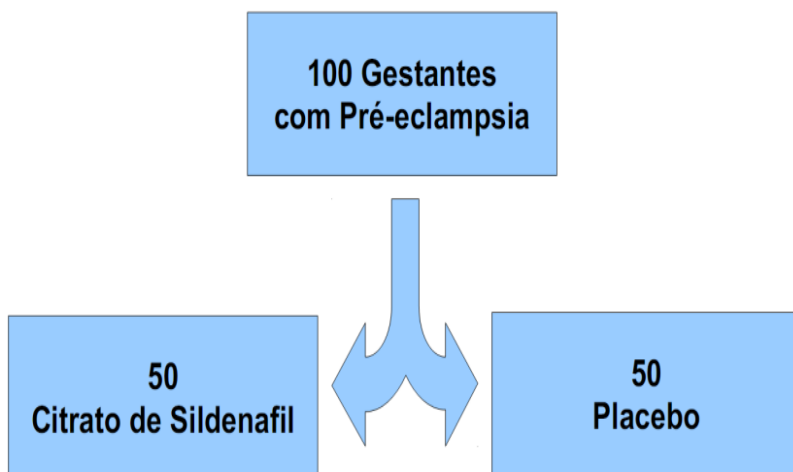
3.6 RANDOMIZAÇÃO

Pacientes aptas a ser incluídas no estudo, após assinatura do termo de consentimento pós-informado, foram randomizadas para cada um dos dois grupos.

A randomização foi blocada (grupos de 5) e distribuídos aleatoriamente, via envelope pardo, em dois grupos iguais com 50 pacientes.

Para cada paciente foi selecionado um envelope com os medicamentos, identificados por uma numeração de 3 dígitos e preparado na farmácia do HU/UFSC. Os envelopes e cápsulas são idênticos e tanto os pesquisadores, quanto os pacientes, não tiveram acesso a lista de randomização, até o fim da pesquisa.

Figura 5: Esquema da randomização.



3.7 PROCEDIMENTOS

Nas primeiras 24 horas após a internação e a randomização, realizou-se: exame de ultrassonografia obstétrica com dopplervelocimetria, perfil biofísico fetal, medida da pressão arterial a cada quatro horas e exames laboratoriais.

No segundo dia, teve início a administração da medicação do estudo, sendo uma cápsula a cada 8 horas. Foi mantido as medidas de pressão arterial de 4 em 4 horas, exame clínico diário, exame de cardiotocografia a cada 24 ou 48 horas e dopplervelocimetria a cada 24 a 96 horas. Demais exames de rotina a cada 3 ou 4 dias. As pacientes permaneceram internadas até o nascimento de seu filho.

Logo após o nascimento, foi realizado a avaliação do recém-nato e acompanhamento de sua evolução.

Uma consulta de controle, para a mãe e o seu filho, era realizada entre 30 a 40 dias após a alta hospitalar.

3.7.1 Interrupção da gravidez

A decisão de interromper a gravidez foi baseada nos critérios do serviço e definida pela equipe de perinatologia.

Até 34 semanas, ela é indicada principalmente por alteração grave da vitalidade fetal (Diástole reversa na dopplervelocimetria da artéria umbilical, alteração do ducto venoso ($IP < 1,0$), oligoâmnio grave ($MBV < 2\text{cm}$ ou $ILA < 5\text{cm}$) ou perfil biofísico fetal abaixo de 6), óbito fetal ou alteração grave das condições maternas (dose máxima de anti-hipertensivo insuficiente para controle, alteração progressiva da função renal, com creatinina acima de 2 mg/dL, eclampsia, alterações neurológicas ou síndrome HELLP).

Após 34 semanas, além das alterações anteriores, o diagnóstico de um quadro grave^{1,72} já indica a interrupção da gravidez.

3.7.2 Avaliação da pressão arterial

A medida da pressão arterial foi realizada a cada 4 horas, pela equipe de enfermagem, com esfigmomanômetros aneróides, calibrados e inspecionados pelo INMETRO. Sempre no membro superior esquerdo, com a paciente sentada, utilizando manguito adequado ao braço (circunferência do braço entre 27 e 34 cm – manguito de 16 a 30 cm de largura e circunferência do braço entre 35 e 44 cm – manguito de 16 a 36 cm de largura), mantendo o braço na altura do coração. A pressão arterial sistólica foi determinada na fase I e a diastólica, na fase V de Korotkoff (correspondente ao desaparecimento da bulha).⁷⁴

A pressão arterial média (PAM) foi calculada com a fórmula: Pressão arterial diastólica + $1/3$ [pressão arterial sistólica – pressão arterial diastólica].

Foi utilizado para análise a média das PAM das primeiras 24 horas antes da randomização e as medidas das 24 horas seguintes ao início da medicação.

3.7.3 Dopplervelocimetria

O exame foi realizada em um aparelho de ultrassonografia Toshiba Xario SSA-660A (*Otawara, Tochigi, Japão*), com Doppler e mapeamento colorido, utilizando uma sonda convexa de 3,5 MHz. Os pacientes foram examinados na posição de semi-Fowler, durante um período de ausência de movimentos fetais e respiratórios. Foram medidas um mínimo de seis formas de onda Doppler uniformes. A janela de amostra do Doppler foi ajustada de acordo com o diâmetro do vaso, e do ângulo de insonação foi mantido o mais próximo possível de zero. O índice de pulsatilidade (IP) foi calculado automaticamente pelo equipamento, com filtro de parede sempre em 50Hz. As medições foram realizadas sobre os ramos ascendentes das artérias uterinas esquerda e direita, no ponto de cruzamento aparente com as artérias ilíacas externas. A artéria umbilical foi avaliada em alça livre, enquanto a artéria cerebral média (ACM) em um corte axial do cérebro, ao nível do círculo de Willis. Cada

sequência de medições foi realizada três vezes durante cada exame e a média dos resultados utilizada para análise. O mesmo operador realizou todos os exames (médico obstetra e ultrassonografista), obedecendo os protocolos da ISUOG (*International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*)⁷³

As medidas da dopplervelocimetria foram comparadas entre o exame inicial (anterior a medicação) e as medidas realizadas após 24 horas do início do tratamento.

3.7.4 Exames laboratoriais básicos

Exames de sangue e urina foram realizados na admissão e repetidos a cada 3 ou 4 dias, ou com mais frequência, na dependência da gravidade ou de alterações em seus resultados. Os básicos foram: Hemograma completo (incluindo dosagem de plaquetas), creatinina, ácido úrico, transaminases e bilirrubinas no sangue e parcial de urina e proteinúria 24 horas.

3.7.5 Medicamentos

Os medicamentos da pesquisa foram preparados em cápsulas gelatinosas brancas, número 3, idênticas e embaladas em envelopes identificados por numeração. Apenas o controle do trabalho (Serviço de Farmácia do HU/UFSC), tinha o registro.

- Placebo com substância inerte, composto de dióxido de silício 1 %, estearato de magnésio 0,5 %, lauril sulfato sódio 1,0 %, talco farmacêutico 30 %, amido 67,5 %.
- Citrato de Sildenafil, em dose de 50mg (*Pfizer, Guarulhos, SP, Brasil*) e mesmo excipiente do placebo.

A dose de CS foi definida baseado em trabalhos realizados no tratamento da hipertensão pulmonar^{74,75} e na dose necessária para alcançar o nível sérico de 120ng/mL,^{60,76} valor que em estudos in vitro foram eficientes para determinar vasodilatação significativa em artérias placentárias de gestantes com PE.⁴²

Outros anti hipertensivos, bem como o aumento da dose da alfa-metil-dopa, foram indicados sempre que a pressão diastólica ficava igual ou superior a 110mmHg e/ou pressão arterial diastólica acima de 160mmHg. Para ajuste imediato foi

utilizado a hidralazina endovenosa (5mg a cada 20 minutos, até a dose máxima de 30mg).⁷² Para ajuste de manutenção, foi indicado inicialmente a alfa-metil dopa via oral (de 0,5 a 2g/dia) e, se necessário, associado o pindolol, também via oral (de 10 a 30mg/dia).⁷²

A Betametasona (12mg IM, repetindo após 24hs), para reduzir o risco de síndrome da angústia respiratória neonatal, hemorragia intracraniana e enterocolite necrosante, foi prescrita apenas quando havia indícios (maternos ou fetais) do parto ocorrer dentro de 72 horas.^{1,72} Só não foi administrada quando a idade gestacional era igual ou superior a 34 semanas, ou não houve tempo hábil.

Sulfato de Magnésio, para neuro-proteção e antibióticos para a profilaxia de sepse neonatal, quando indicados, eram administrados de acordo com os protocolos da FEBRASGO.⁷²

3.7.6 Avaliação neonatal

Realizada pela equipe da neonatologia do hospital.

Variáveis: Escala de Apgar do quinto minuto,⁷⁷ peso (absoluto e avaliação de CIUR, pela tabela de percentil),⁷⁸ necessidade e tempo de unidade neonatal e complicações neonatais (como óbito, síndrome do desconforto respiratório, hemorragia intraventricular, enterocolite necrosante e sepsis neonatal).

3.7.7 Análise de dados

Foi realizado como análise de intenção de tratar (AIT).

Os dados foram testados quanto à normalidade através da aplicação do teste Kolmogorov-Smirnov, com nível de significância de 5%. ANOVA para amostras pareadas foi utilizado para comparar mudanças nas médias do Z-score da dopplervelocimetria. Demais comparações com o Teste t de Student (variáveis contínuas) e χ^2 (variáveis categóricas), com um nível de significância de $P < 0,05$. Análise estatística foi realizada usando SPSS 8.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA).

3.7.8 Aspectos de segurança

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da UFSC, número 271.404, plataforma Brasil/SISNEP número 01716812.9.0000.0121 e Registros Brasileiros de Ensaio Clínicos (REBEC) número 3654, sendo observados todos os princípios definidos na Declaração de Helsinki, 2008.⁷⁹

O termo de consentimento livre e esclarecido, com informação clara e bem específica, foi assinado por todas as pacientes.

Até os dias atuais, não foi descrita lesão biológica em fetos humanos submetidos ao Doppler diagnóstico. Portanto, o Doppler pulsado e o colorido são seguros na exposição ultra-sonográfica do pré-natal e é utilizado rotineiramente em todos os serviços de medicina fetal.⁷³

O CS, apesar de não ser habitualmente utilizado no tratamento da PE, é uma droga categoria B, segundo FDA, assim como os demais anti-hipertensivos padronizados.⁴¹

Um grupo independente, formado pelo serviço de Farmácia do HU/UFSC, fez o controle das medicações e da segurança do estudo, avaliando os resultados a cada 20 nascimentos, de modo que o estudo seria interrompido caso os resultados com o CS fossem significativamente piores do que o placebo.

Estudos feitos com inibidores da fosfodiesterase tipo 5 para pré eclampsia, CIUR e hipertensão pulmonar em gestantes humanas não demonstraram efeitos colaterais importantes ou alterações fetais/neonatais.^{60,74,80,81}

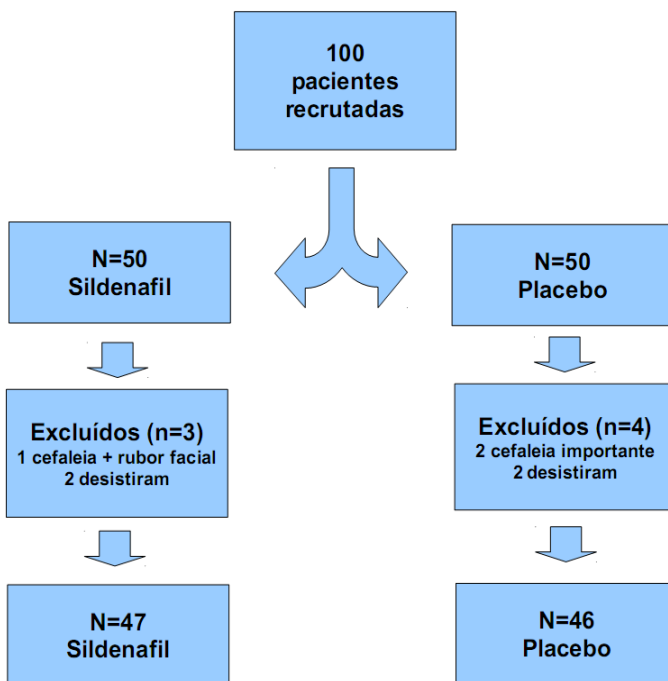
O uso do placebo foi protegido, já que as pacientes permaneceram internadas e com controle rigoroso, sendo prescrito medicamentos complementares para o controle da pressão arterial, sempre que necessário, independente do estudo.

4. RESULTADOS

4.1 PARTICIPANTES

Cem gestantes foram recrutadas para o estudo. Quatro retiraram seu consentimento antes do nascimento (duas em cada grupo). Estavam inseguras em participar de um projeto de pesquisa com placebo. Mais três pacientes foram retiradas do estudo antes do final (uma no grupo do CS, por cefaleia importante e rubor facial) e duas no grupo controle (também por cefaleia importante). Todas as sete mulheres excluídas concordaram em incluir seus dados no estudo, que foi analisado por intenção de tratar.

Figura 6: Fluxograma do progresso do estudo.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os casos em cada grupo foram semelhantes em suas características (Tabela 1). Não houve diferença na gravidade da PE entre os dois grupos, comparando o nível de proteína na urina de 24 horas, pressão arterial, CIUR e uso de medicação anti-hipertensiva.

Tabela 1 : Características basais e demográficas no momento da randomização.

<i>Características</i>	<i>Sildenafil</i> <i>N = 50</i>	<i>Placebo</i> <i>N = 50</i>	<i>P</i>
Idade Materna (anos)	25,3 +/- 5,4	26,4 +/- 6,1	0,48
Nuliparidade	29 (58,0%)	27 (54,0%)	0,68
Etnia não branca	5 (10,0%)	6 (12,0%)	0,75
IMC	28,6 +/- 4,3	30,2 +/-5,1	0,22
Fumantes	6 (12,0%)	8 (16,0%)	0,56
Pré-eclampsia prévia	7 (14,0%)	9 (18,0%)	0,58
Proteinúria (g/24hs)	1,2 +/- 2,0	1,5 +/- 1,8	0,32
CIUR	31 (62,0%)	28 (56,0%)	0,54
Idade gestacional (IG)	29,1 +/- 2,1	30,2 +/- 2,4	0,19
PAS (mmHg)	164 +/-14	158 +/-13	0,34
PAD (mmHg)	102 +/- 8	98 +/-9	0,38
Uso anti-hipertensivo	14 (28,0%)	16 (32,0%)	0,66

Idade materna, IMC, proteinúria 24hs, IG, PAS, PAD, em média com DP.

Nuliparidade, Etnia não branca, fumantes, pré-eclampsia prévia, CIUR e uso de anti-hipertensivos em número de pacientes com percentual.

IMC: índice de massa corporal, CIUR: crescimento intra-uterino restrito, PAS: pressão arterial sistólica, PAD: pressão arterial diastólica. Análise de intenção de tratar. Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 RESULTADOS CLÍNICOS

A interrupção da gravidez obedeceu os critérios definidos pelo estudo em todos os casos, sendo que não houve diferenças entre os grupos (tabela 2).

Tabela 2: Indicações para a interrupção da gravidez.

<i>Indicação</i>	<i>Sildenafil</i> <i>N = 50</i>	<i>Placebo</i> <i>N = 50</i>	<i>P</i>
Alteração fetal	13 (26,0%)	17 (34,0%)	0,38
Alteração laboratorial materna	12 (24,0%)	14 (28,0%)	0,65
Sintomas maternos	13 (26,0%)	16 (32,0%)	0,51
Agravamento da PA	11 (22,0%)	15 (30,0%)	0,36
Idade gestacional >34 sem	16 (32,0%)	11 (22,0%)	0,26
Eclampsia	2 (4,0%)	3 (6,0%)	0,64
DPP	2 (4%)	1 (2,0%)	0,56
Insuficiência Cardíaca	0 (0%)	1 (2,0%)	0,31

Alteração fetal (número:CS/placebo): CIUR (4/7), oligoâmnio (3/5), alteração batimentos cardíacos fetais (5/6), alteração ao Doppler (8/6) ou óbito fetal (1/2).

Alteração laboratorial materna (número:CS/placebo): aumento das enzimas hepáticas (2/4), trombocitopenia (2/2) e creatinina >2 mg/dL (2/1).

Sintomas maternos (número:CS/placebo): cefaléia intensa (8/8), alterações visuais (6/8) e epigastralgia (4/2).

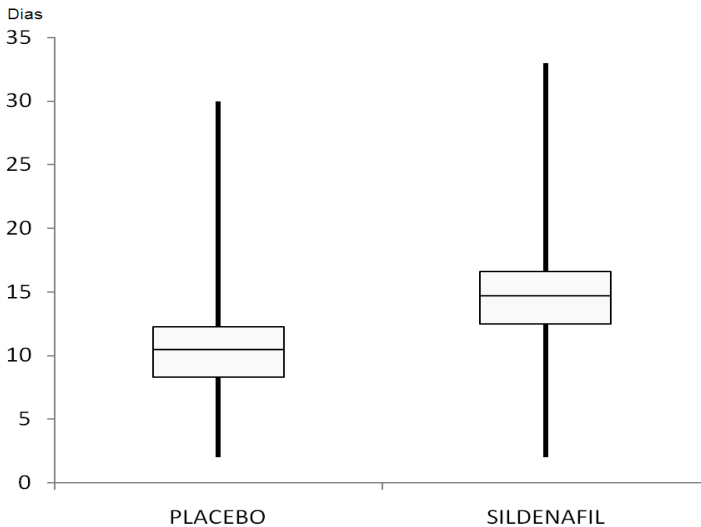
PA, pressão arterial; DPP, descolamento prematuro de placenta.

Algumas gestantes tiveram mais de uma indicação para a interrupção.

Análise de intenção de tratar. Fonte: Elaborada pelo autor

O Tempo entre a randomização e o parto foi, em média, 4,01 dias maior no grupo do CS, comparando com o grupo placebo (14,40 IC12,50-16,59 contra 10,39 IC8,35-12,32, $p=0,008$), figura 7.

Figura 7: Tempo entre a randomização e o nascimento.



Média \pm DP. Sildenafil N = 50; Placebo N = 50. Análise de Intenção de tratar. $p=0,008$. Fonte: elaborada pelo autor.

A necessidade de outro hipotensor ou o aumento da dose da metil-dopa, após a randomização, foi maior no grupo placebo (29 casos, 58%) do que no grupo do sildenafil (16 casos, 32%), sendo $p=0,009$ (AIT).

Não houve diferença quanto ao uso de corticoide antes do nascimento, sendo o esquema completo administrado em 42 casos do grupo sildenafil (84%) e 40 casos do grupo placebo (80%) ($p=0,60$).

Também não houve diferença quanto a via de parto, sendo cesariana em 42 casos do grupo sildenafil (84%) e em 44 casos do grupo placebo (88%) ($p=56$).

4.3 RESULTADOS HEMODINÂMICOS.

O Z-score do índice de pulsatividade das artérias uterinas e umbilical, após 24 horas da medicação, diminuíram com o uso do CS. Nenhuma modificação foi verificada na artéria cerebral média (ACM), tabela 3 e 4.

Tabela 3: Comparação do índice de pulsatividade (IP) obtido antes e 24hs após a administração de citrato de sildenafil ou placebo.

<i>Grupo</i>	<i>Artéria</i>	<i>IP antes</i>	<i>IP após</i>
Sildenafil	Uterina	2,04 ± 0,15	1,58 ± 0,15
	Umbilical	1,46 ± 0,12	1,19 ± 0,17
	ACM	1,44 ± 0,11	1,58 ± 0,16
Placebo	Uterina	1,99 ± 0,17	1,97 ± 0,16
	Umbilical	1,40 ± 0,14	1,38 ± 0,13
	ACM	1,51 ± 0,15	1,61 ± 0,14

Dados em médias ±DP. Análise de intenção de tratar.

ACM, artéria cerebral média.

Fonte: Elaborada pelo autor.

Tabela 4: Comparação do Z-score do índice de pulsatividade (IP) obtido antes e 24hs após a administração de citrato de sildenafil ou placebo.

<i>Grupo</i>	<i>Artéria</i>	<i>Z-score antes</i>	<i>Z-score após</i>	<i>P*</i>
Sildenafil	Uterina	2,77±0,71	2,25±0,61	<0,001
	Umbilical	3,01±0,48	1,81±0,60	<0,001
	ACM	1,55±0,35	1,48±0,52	0,38
Placebo	Uterina	2,77±0,67	2,63±0,68	0,42
	Umbilical	2,88±0,58	3,11±0,55	0,31
	ACM	1,65±0,44	1,53±0,42	0,28

*Z-score do IP comparado com ANOVA para amostras pareadas. Dados em médias ±DP. Análise de intenção de tratar. ACM, artéria cerebral média.

Fonte: Elaborada pelo autor

A pressão arterial média diminuiu significativamente com a administração do sildenafil ($p < 0,05$, AIT), sendo que não houve mudança com o placebo (tabela 5).

Tabela 5: Comparação da Pressão Arterial Média (PAM) obtida antes e após a administração do citrato de sildenafil ou placebo.

<i>Grupo</i>	<i>PAM antes</i>	<i>PAM após</i>	<i>Variação (%)</i>	<i>p</i>
Sildenafil	116,4 ± 5,1	100,3 ± 5,6	- 16,1 (13,8)	<0,05
Placebo	114,7 ± 6,5	110,6 ± 6,2	- 4,1(3,6)	0,21

Dados em médias ± DP das medidas aferidas nas 24hs anteriores e posteriores ao início da medicação. Análise de intenção de tratar

Fonte: Elaborada pelo autor

4.4 TOLERÂNCIA

Apenas três pacientes foram excluídas do estudo por possível efeito colateral (cefaleia importante), sendo uma no grupo do sildenafil e duas no grupo controle. Os eventos adversos estão listados na tabela 6, sendo que não houve diferenças entre os grupos.

Tabela 6: Eventos adversos maternos

<i>Eventos</i>	<i>Sildenafil N = 50</i>	<i>Placebo N = 50</i>	<i>P</i>
Cefaleia	32 (64,0%)	28 (56,0%)	0,41
Distúrbios visuais	10 (20,0%)	12 (24,0%)	0,63
Epigastralgia	10 (20,0%)	11 (22,0%)	0,81
Vômitos	8 (16,0%)	6 (12,0%)	0,56
Alterações neurológicas	3 (6,0%)	5 (10,0%)	0,46
Eclâmpsia	2 (4,0%)	3 (6,0%)	0,31
Diarreia	2 (4,0%)	2 (4,0%)	1,00
Tonturas	2 (4,0%)	2 (4,0%)	1,00
HELLP síndrome	2 (4,0%)	2 (4,0%)	0,31
DPP	2 (4,0%)	1 (2,0%)	0,56
Insuficiência renal	2 (4,0%)	1 (2,0%)	0,56
Hemorragia pós-parto	1 (2,0%)	1 (2,0%)	1,00

HELLP, *Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count*.

DPP, descolamento prematuro de placenta. Análise de intenção de tratar

4.5 RESULTADOS NEONATAIS

Não houve diferenças entre os grupos quanto aos resultados neonatais (tabela 7).

Tabela 7: Comparação dos resultados no recém nato.

<i>Resultados</i>	<i>Sildenafil N = 50</i>	<i>Placebo N = 50</i>	<i>P</i>
Idade Gestacional (semanas)	32,3 \pm 2,5	32,1 \pm 2,7	0,71
Peso (g)	1565 \pm 325	1410 \pm 301	0,21
Apgar 5 min <7	4 (8,0%)	6 (12,0%)	0,50
Admissão UTI ou intermediário	33 (66,0%)	37 (76,0%)	0,38
Dias na UTI ou intermediário	18 \pm 15,4	24 \pm 16,6	0,12
SDR	17 (34,0%)	20 (40%)	0,53
CIUR	30 (60,0%)	29 (58,0%)	0,84
Infecção	11 (22,0%)	13 (26,0%)	0,64
Hemorragia intraventricular	3 (6,0%)	2 (4,0%)	0,65
Trombocitopenia	3 (6,0%)	2 (4,0%)	0,65
Hipotensão	2 (4,0%)	3 (6,0%)	0,65
Enterocolite necrosante	2 (4,0%)	3 (6,0%)	0,40
Hipoglicemia	4 (8,0%)	5 (10,0%)	0,73
Pneumotórax	2 (4,0%)	2 (4,0%)	1,00
Convulsão	1 (2,0%)	0	0,31
Óbito	2 (4,0%)	4 (8,0%)	0,40

Dados em médias \pm DP ou número e percentual . SDR, Síndrome do Desconforto Respiratório, CIUR: Crescimento intra-uterino restrito. Análise de intenção de tratar.

4.6 RESULTADOS SEM A “INTENÇÃO DE TRATAR”

Sem considerar os casos excluídos, o tempo entre a randomização e a interrupção da gravidez foi de 15,31 (IC13,11-17,23) no grupo Sildenafil e de 10,12 (IC7,46-12,13) no grupo placebo, sendo a diferença média de 5,19 dias (p=0,006).

Na análise comparando os dados que incluíam todos os casos (intenção de tratar) com os dados que excluíam os sete casos, não houve diferença significativa dos resultados.

5. DISCUSSÃO

5.1 ASPECTOS CLÍNICOS

Foi demonstrado que o CS via oral, na dose de 50mg de 8/8hs, pode prolongar a gravidez na PE, por um período médio de 4,01 dias ($p=0,008$, AIT). Um estudo inglês que avaliou quase três mil nascimentos prematuros, entre 2008 a 2010, verificou que a sobrevivência dos recém nascidos variou de 28% com 23 semanas à 99% com 33 semanas. Portanto, dependendo da idade gestacional, cada dia ganho, pode corresponder a um aumento de mais de 1% de chance do recém-nascido sobreviver.⁸² A terapia com corticoides, que necessita de uma espera de, ao menos, 36 horas, bem como a estabilização das condições maternas, são exemplos de condutas que potencializam melhores resultados.¹

O único estudo clínico já publicado com CS para tratamento na PE foi o de Samangaya et al.⁶⁰ publicado em 2009, que demonstrou segurança e redução da pressão arterial, mas não comprovou prolongamento da gravidez. As limitações deste estudo foram citadas anteriormente na introdução desta tese.

Vários autores compararam a conduta agressiva na PE (interrupção imediata), com o manejo expectante (*“aggressive versus expectant management”*) quando se manifesta em uma gestação longe do termo.⁶⁴⁻⁷⁰ Com a conduta expectante, o tempo médio entre a internação e o nascimento variou de 6 a 15 dias. Em todos, houve uma melhora nos resultados neonatais, sem comprometer os resultados maternos. No presente estudo, este tempo foi de 10,39 dias para o grupo placebo e 14,4 dias para o grupo que recebeu CS, resultados comparáveis aos dos outros autores.

Não houve diferenças quanto as indicações da interrupção da gravidez. Os motivos encontrados foram semelhantes aos referidos em trabalho clínico anterior⁶⁰ e nos trabalhos que avaliaram a conduta expectante na PE em prematuros.⁶⁴⁻⁷⁰ Como são várias as causas para indicar o parto,

o desenho do atual estudo é insuficiente para confirmar uma possível diferença.

Não houve diferença entre os grupos quanto a indicação do corticoide para maturidade pulmonar. Resultado esperado, pois é rotina seu uso sempre na possibilidade de um nascimento com menos de 34 semanas.^{1,72}

Com o uso do CS não houve modificação na via de parto, sendo que a cesariana foi a mais frequente (80% no grupo placebo e 84% no grupo sildenafil). Resultados semelhantes a autores que estudaram a conduta expectante na PE: Vigil-De Gracia et al,⁶⁷ em hospitais terciários da América Latina, que encontrou 94% de cesarianas; Haddad et al,⁶⁵ na França, que teve índice de 96%; enquanto Sibai et al,⁶⁸ nos Estados Unidos, relatou 73% de cesarianas.

O alto índice de cesarianas se deve tanto às condições maternas, que muitas vezes, não permitem um longo processo de indução do parto, quanto às condições fetais, que envolvem alterações da vitalidade, associadas a insuficiência placentária.

5.2 ASPECTOS HEMODINÂMICOS

O aumento da resistência ao fluxo sanguíneo nas artérias uterinas é um dos primeiros indicativos do processo de placentação deficiente.^{1,7,8,21} A redução desta resistência, que foi demonstrada com o CS, pode determinar uma melhor oxigenação tecidual.

A diminuição do IP da artéria uterina em cerca de 22% como uso do CS foi semelhante ao resultado de 25% com a NTG transdérmica em estudo realizado no mesmo serviço.³³ Stanley et al,⁵⁷ estudando camundongos com PE induzida, demonstraram, com o CS uma redução de 23% do IP da artéria uterina. Relatos de casos informam resultados semelhantes.^{80,83}

A ação vasodilatadora do CS sobre os vasos umbilicais não foi comprovada em alguns estudos *in vitro*.^{43,44} Contudo, pesquisas mais recentes confirmaram que esta ação é significativa.⁴⁵⁻⁴⁷ No presente, verificou-se uma redução média de 18% no IP da artéria umbilical, após 24hs de CS. Em estudo do mesmo serviço, houve redução de 23% com a NTG

transdérmica.³³ Pesquisas com animais também já haviam demonstrado a vasodilatação dos vasos umbilicais com o CS.^{54,57}

Quanto ao fluxo da artéria cerebral média, alguns relatos de casos informaram uma redução, ou até mesmo a reversão, do processo de centralização fetal com o uso do CS.⁸⁰ Contudo, tal potencial não foi demonstrado no presente estudo. Pode ser que a melhora da oxigenação placentária não foi suficiente para reverter o processo de centralização. Outra possibilidade é que a ação vasodilatadora do CS manteve o processo já instalado. Em vários estudos anteriores o IP da artéria cerebral média permaneceu inalterada após administração de doadores de óxido nítrico, o que sugere também que o tônus vascular arterial cerebral fetal não é dependente de óxido nítrico externo.^{32,33, 84, 85}

O CS foi inicialmente pesquisado como anti-hipertensivo.⁴¹ Portanto, como esperado, sua ação hipotensora foi clinicamente demonstrada. A redução média da PAM foi de 13,8%.

Samangaya et al.⁶⁰ em seu estudo clínico, demonstrou redução de 6% na pressão arterial diastólica no grupo do CS, enquanto houve um aumento de 7% no grupo placebo. Lembrando que as doses de CS foram mais baixas em seu trabalho.

Uma das preocupações na atenção às gestantes com PE e pressão arterial muito elevada é a escolha da medicação. A maior parte dos medicamentos hipotensores diminuem também o fluxo utero-placentário e apresentam como efeito colateral o CIUR e a redução do volume do líquido amniótico.¹ Portanto, o perfil demonstrado pelo CS (redução da pressão arterial, com melhora do fluxo útero-placentário) sugere seu uso no contexto da PE associada a insuficiência vascular placentária.

5.3 TOLERÂNCIA

Muitos dos possíveis efeitos colaterais descritos para o CS coincidem com sinais e sintomas da própria PE. Os quatro mais referidos (cefaleia, distúrbios visuais, epigastralgia e vômitos) podem ser, além de sintomas premonitórios de

eclâmpsia, relacionados ao aumento da pressão arterial, edema e outros medicamentos (alfa-metil-dopa e/ou hidralazina).^{1,2,72}

Não houve diferenças entre os grupos quanto a prevalência de eventos adversos. Provavelmente, porque os efeitos colaterais do CS não são muito frequentes⁴¹ e os grupos são similares quanto as características de gravidade da PE. Outra possibilidade é que o melhor controle da pressão arterial com o CS compensou parcialmente seus efeitos colaterais.

A cefaleia foi o evento mais encontrado e coincide com o efeito colateral mais frequente do CS. Contudo, é um sintoma muito presente em gestantes com PE.² Três gestantes tiveram cefaleia grave, com pouco alívio aos analgésicos e tiveram que ser excluídas do estudo. Apenas uma fazia uso do CS. Na maior parte dos outros casos a cefaleia era eventual e desaparecia com medicação analgésica e/ou anti-hipertensivo.

Demais eventos foram pouco frequentes e o tamanho de amostra inadequado para confirmar ou não qualquer outra associação.

5.4 RESULTADOS NEONATAIS

A idade gestacional e peso ao nascimento foram muito semelhantes nos dois grupos (sildenafil 32,3 sem DP2,5sem / 1565g DP325 e placebo 32,1sem DP2,7sem / 1410g DP301g). Um fator a considerar é que a média de idade gestacional no grupo sildenafil, ao início do estudo foi de 29,1 sem (DP2,1), enquanto no grupo placebo foi de 30,2 sem (DP2,4). Resultados bastante semelhantes, tanto ao estudo de Samangaya et al.⁶⁰, quanto aos trabalhos de conduta expectante na PE.⁶⁴⁻⁷⁰

Quanto as intercorrências (eventos adversos) neonatais, não houve diferenças entre os grupos e foram semelhantes a de outros autores (tabelas 8 e 9).

Tabela 8 - Comparação entre o percentual dos eventos adversos neonatais do presente estudo, com o de Samangaya et al.⁶⁰ (n=17+18)

Eventos adversos	Trapani et al.		Samangaya et al. ⁶⁰	
	sildenafil	placebo	sildenafil	placebo
Apgar <7	8	12	NI	NI
Internação UN	66	76	NI	NI
SDR	34	40	47	44
CIUR	60	58	NI	NI
Infecção	22	26	0	22
HI	6	4	6	11
TCP	6	4	12	6
Hipotensão	4	6	6	6
EN	4	6	6	6
Hipoglicemia	8	10	6	6
Pneumotórax	4	4	0	6
Convulsão	2	0	0	6
Óbito	4	8	6	11

Valores em percentuais aproximados. Abreviações: NI, não informado; UN, unidade neonatal; SDR, síndrome do desconforto respiratório; CIUR, crescimento intra-uterino restrito; HI, hemorragia intra-ventricular; TCP, trombocitopenia; EN, enterocolite necrosante. Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 9 - Comparação entre o percentual dos eventos adversos neonatais do presente estudo, com autores que estudaram a conduta expectante em PE.

Eventos adversos	Trapani et al.		SB	SA	HA	VG
	CS	Plac				
Apgar <7	8	12	16	NI	NI	NI
Internação UN	66	76	76	NI	NI	73
SDR	34	40	26	23	41	46
CIUR	60	58	30	31	28	22
Infecção	22	26	NI	6	NI	25
HI	6	4	2	0	6	1
EN	4	6	0	NI	6	2
Óbito	4	8	0	11	7	9

Valores em percentuais aproximados. Estudos: SB, Sibai et al.⁶⁶ (n=49); SA, Sarsam et al.⁶⁹ (n=35); HA, Haddad et al.⁶⁵ (n=239); VG, Vigil-De Gracia et al.⁶⁷ (n=131) Abreviações: NI, não informado; CS, citrato de sildenafil; Plac, placebo; UN, unidade neonatal; SDR, síndrome do desconforto respiratório; CIUR, crescimento intra-uterino restrito; HI, hemorragia intra-ventricular; TCP, trombocitopenia; EN, enterocolite necrosante.

Trombocitopenia, hipotensão, hipoglicemia, pneumotórax e convulsão não foram informados nos estudos em comparação.

Fonte: elaborada pelo autor.

5.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar da melhora hemodinâmica e do tempo ganho de gravidez, não houve diferença entre os grupos quanto aos resultados neonatais. Estes resultados podem ser explicados pelo número insuficiente de casos para análise destes desfechos ou pelo início tardio da medicação. Sabemos que o processo fisiopatológico da pré-eclampsia tem seu início bem antes das manifestações clínicas.^{7,8,21} Portanto, o tempo de tratamento pode ter sido insuficiente para que a melhora do fluxo materno-fetal evitasse a disfunção endotelial e a liberação de fatores inflamatórios.

A heterogeneidade dos casos reduz o potencial de identificar os efeitos adversos. Contudo, como não houve diferença entre o placebo e o CS quanto aos eventos maternos e no recém nato, provavelmente estes foram decorrentes da própria doença de base e da prematuridade. Isso demonstra que o medicamento é bem tolerado, na dose utilizada. Outros estudos também chegaram a mesma conclusão.^{33,60,62}

6 CONCLUSÕES

1. O CS, via oral, na dose de 50mg de 8/8hs, iniciando na idade gestacional entre 24 e 33 semanas, prolongou o tempo de gravidez (média de 4,01 dias) em gestantes com PE.
2. A necessidade de outro hipotensor ou o aumento da dose da alfa-metil-dopa, após a randomização, foi maior no grupo placebo (29 casos, 58%) do que no grupo do sildenafil (16 casos, 32%).
3. Verificou-se redução do IP nas artérias uterinas e nas artérias umbilicais, sem alterar o IP das ACM, quando comparando as medidas antes e 24hs após receber o CS.
4. A PAM reduziu significativamente (13,8%) com o uso do CS.
5. O evento adverso materno mais frequente foi a cefaleia, mais não houve diferença entre os grupos.
6. Não houve diferenças entre os grupos quanto aos resultados neonatais.

6.1 RESPOSTA A HIPÓTESE DA PESQUISA

O CS prolongou a duração da gravidez, com um perfil hemodinâmico favorável e boa tolerabilidade, contudo, a melhora dos resultados perinatais não pode ser confirmada.

7 APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS

O CS, bem como os outros inibidores da PDE5, ainda é uma droga experimental para uso na obstetrícia. Apesar dos resultados positivos nos experimentos in vitro e em modelos animais, os estudos clínicos ainda estão em fase inicial. Seu uso deve ser restrito a protocolos de pesquisa.

Na PE, os resultados apresentados são promissores, contudo estudos com um número maior de pacientes e um início mais precoce da medicação são necessários. A avaliação de outros inibidores da PDE5 deve ser realizada, principalmente o vardenafil e os de mais longa duração.

O uso de CS para tratamento do CIUR também aguarda mais evidências para sua confirmação. Vários ensaios clínicos estão em curso.⁶³

Outra aplicação, em fase inicial de estudo, é o uso do CS durante o trabalho de parto, para reduzir o risco de situação fetal não tranquilizadora e as cesarianas de urgência.⁸⁶

REFERÊNCIAS

1. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013;122:1122–31.
2. August, P. Sibai, MB. Preeclampsia: Clinical feature and diagnosis. In: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (acesso em 04 Jan 2016.) Disponível em: <http://www.uptodate.com>
3. Souza, ASR. Noronha, CN. Coutinho, IC. Diniz, CP. Lima, MMS. Pré-Eclampsia. *Femina* 2006; 34(7):499-507
4. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, et al. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 170:1-7.
5. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25:391-403.
6. Karumanchi, SA. Lim, KH. August, P. Preeclampsia: Pathogenesis. In: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (Acesso em 10 Jan 2016.) Disponível em: <http://www.uptodate.com>
7. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science* 2005; 308:1592-4.
8. Redman, CWG. Sargent, IL. Immunology of Pre-Eclampsia. *Am J of Reprod Immunol* 2010; 63:534-43
9. Loke YW, King A. Immunology of implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2000; 14:827-37.

10. Huang SJ, Chen CP, Schatz F, et al. Pre-eclampsia is associated with dendritic cell recruitment into the uterine decidua. *J Pathol* 2008; 214:328-36.
11. Granger JP, Alexander BT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension. *Am J Hypertens* 2001; 14:178S-185S.
12. Wenzel K, Rajakumar A, Haase H, et al. Angiotensin II type 1 receptor antibodies and increased angiotensin II sensitivity in pregnant rats. *Hypertension* 2011; 58:77-84.
13. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005; 330:565.
14. Carr DB, Epplein M, Johnson CO, et al. A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193:965-72.
15. Skjaerven R, Vatten LJ, Wilcox AJ, et al. Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population based cohort. *BMJ* 2005; 331(7521):877.
16. Zhou Y, Damsky CH, Chiu K, et al. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J Clin Invest* 1993; 91:950-60.
17. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, et al. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:669-74.
18. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruysse L, Romero R. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol* 2011; 204:193-201.

19. Espinoza, J. *et al.* Normal and abnormal transformation of the spiral arteries during pregnancy. *J. Perinat. Med* 2006; 34, 447–458.
20. Dekker GA. Risk factors for preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol* 1999; 42:422-35.
21. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180:499-506.
22. Chaiworapongsa T, Romero R, Korzeniewski SJ, *et al.* Plasma concentrations of angiogenic/anti-angiogenic factors have prognostic value in women presenting with suspected preeclampsia to the obstetrical triage area: a prospective study. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2014; 27:132-44.
23. Levine RJ, Lam C, Qian C, *et al.* Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355:992-1005.
24. Myatt L, Brewer A, Brockman DE. The action of nitric oxide in the perfused human fetal-placental circulation. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:687–92.
25. Gude NM, King RG, Brennecke SP. Role of endothelium-derived nitric oxide in maintenance of low fetal vascular resistance in placenta. *Lancet* 1990;336(8730):1589–90.
26. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993;329:2002–12.
27. Johal, T., Lees, C. C., Everett, T. R., and Wilkinson, I. B. The nitric oxide pathway and possible therapeutic options in pre-eclampsia. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2014;78, 244–257.
28. Hashimoto, S, Kobayashi, A. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Glycerol Trinitrate and its Metabolites. *Clin. Pharmacokinetics*, 2003; 42(3):205-221

29. Simhan N, Caritis S. Uptodate, Inhibition of acute preterm labor. UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (acesso em 07 nov 2015) Disponível em: <http://www.uptodate.com>
30. Meher S, Duley L. Nitric oxide for preventing pre-eclampsia and its complications. Cochrane Database Syst Rev. 2007; 18;(2):CD006490.
31. Oyelese KO, Black RS, Lees CC, AMPcbell S. A novel approach to the management of pregnancies complicated by uteroplacental insufficiency and previous stillbirth. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 1998;38(4):391-5.
32. Cacciatore B, Halmesmäki E, Kaaja R, Teramo K, Ylikorkala O. Effects of transdermal nitroglycerin on impedance to flow in the uterine, umbilical, and fetal middle cerebral arteries in pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth retardation. Am J Obstet Gynecol. 1998 Jul;179(1):140-5.
33. Trapani Jr, A, Gonçalves LF, Pires, M M. Transdermal nitroglycerin in patients with severe pré-eclampsia with placental insufficiency: effect on Doppler velocimetry of uterine, umbilical and middle cerebral arteries. Ultras Obstet Gynecol 2011 Oct;38(4):389-94
34. Reiniger G, lehmann G. Increasing nitroglycerin release from patches enable circumvention of early nitrate tolerance. Cardiovasc Drugs Ther 1998;12(2):217-24.
35. Pepini CJ, Lopez LM, Bell DM, et al. Effects of intermittent transdermal nitroglycerin on occurrence of ischemia after patch removal: results of the second transdermal intermittent dosing evaluation study (TIDES-II). J Am Coll Cardiol 1997; 30:955-61.
36. Sayed N, Kim DD, Fioramonti X, Iwahashi T, Durán WN, Beuve A. Nitroglycerin-induced S-nitrosylation and

desensitization of soluble guanylyl cyclase contribute to nitrate tolerance. *Circ Res* 2008; 103: 606–14.

37. Facchinetti F, Longo M, Piccinini F, Neri I, Volpe A. L-arginine infusion reduces blood pressure in preeclamptic women through nitric oxide release. *J Soc Gynecol Investig* 1999; 6: 202–7.
38. Vadillo-Ortega F, Perichart-Perera O, Espino S, Avila-Vergara MA, Ibarra I, Ahued R, Godines M, Parry S, Macones G, Strauss JF. Effect of supplementation during pregnancy with L-arginine and antioxidant vitamins in medical food on pre-eclampsia in high risk population: randomized controlled trial. *BMJ* 2011; 342: d2901.
39. Boswell-Smith V, Spina D, Page CP. Phosphodiesterase inhibitors. *Br J Pharmacol*. 2006;147(Suppl 1):S252–7.
40. Wood ER, Bledsoe R, Chai J, et al. The Role of Phosphodiesterase 12 (PDE12) as a Negative Regulator of the Innate Immune Response and the Discovery of Antiviral Inhibitors. *J Biol Chem*. 2015;290:19681–19696.
41. Lexicomp, Sildenafil. UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA. (acesso em 06 nov 2015) Disponível em: <http://www.uptodate.com>
42. Wareing M, Myers JE, O'hara M, Kenny LC, Warren AY, Taggart MJ, Skillern L, Machin I, Baker PN. Effects of a phosphodiesterase-5 (PDE5) inhibitor on endothelium-dependent relaxation of myometrial small arteries. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 May;190(5):1283-90.
43. Wareing M, Myers JE, O'Hara M, Kenny LC, Taggart MJ, Skillern L, Machin I, Baker PN. Phosphodiesterase-5 inhibitors and omental and placental small artery function in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006 Jul;127(1):41-9.

44. Samangaya RA, Wareing M, Skillern L, Baker PN. Phosphodiesterase inhibitor effect on small artery function in preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2011;30(2):144-52
45. Karasu E, Kayacan N, Sadan G, Dinc B. Different effects of different phosphodiesterase type-5 inhibitors in pre-eclampsia. *Pregnancy Hypertens.* 2011;1(3-4):231-7.
46. Karasu E, Kayacan N, Sadan G, Dinc B. Endothelial dysfunction in the human umbilical artery due to preeclampsia can be prevented by sildenafil. *Clin Exp Hypertens.* 2012;34(2):79-85.
47. Kakigano A, Tomimatsu T, Mimura K, Kanayama T, Fujita S, Minato K, Kumasawa K, Taniguchi Y, Kanagawa T, Endo M, Ishihara T, Namba T, Mizushima T, Kimura T. Drug Repositioning for Preeclampsia Therapeutics by In Vitro Screening: Phosphodiesterase-5 Inhibitor Vardenafil Restores Endothelial Dysfunction via Induction of Placental Growth Factor. *Reprod Sci.* 2015; 22(10):1272-80.
48. Coppage KH, Sun X, Baker RS, Clark KE. Expression of phosphodiesterase 5 in maternal and fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193(3 Pt 2):1005-10.
49. Turgut NH, Temiz TK, Bagcivan I, Turgut B, Gulturk S, Karadas B. The effect of sildenafil on the altered thoracic aorta smooth muscle responses in rat pre-eclampsia model. *Eur J Pharmacol.* 2008 Jul; 28;589(1-3):180-7.
50. Cauli O, Herraiz S, Pellicer B, Pellicer A, Felipo V. Treatment with sildenafil prevents impairment of learning in rats born to pre-eclamptic mothers. *Neuroscience.* 2010; 1;171(2):506-12.
51. Ramesar SV, Mackraj I, Gathiram P, Moodley J. Sildenafil citrate improves fetal outcomes in pregnant, L-NAME treated, Sprague-Dawley rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2010; 149(1):22-6.

52. Ramesar SV, Mackraj I, Gathiram P, Moodley J. Sildenafil citrate decreases sFlt-1 and sEng in pregnant L-NAME treated Sprague-Dawley rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2011; 57(2):136-40.
53. Nassar AH, Masrouha KZ, Itani H, Nader KA, Usta IM. Effects of sildenafil in N ω -nitro-L-arginine methyl ester-induced intrauterine growth restriction in a rat model. *Am J Perinatol.* 2012; 29(6):429-34.
54. Herraiz S, Pellicer B, Serra V, Cauli O, Cortijo J, Felipe V, Pellicer A. Sildenafil citrate improves perinatal outcome in fetuses from pre-eclamptic rats. *BJOG.* 2012; 119(11):1394-402.
55. Stanley JL, Andersson IJ, Poudel R, Rueda-Clausen CF, Sibley CP, Davidge ST, Baker PN. Sildenafil citrate rescues fetal growth in the catechol-O-methyl transferase knockout mouse model. *Hypertension*; 2012. 59(5):1021-8.
56. George EM, Palei AC, Dent EA, Granger JP. Sildenafil attenuates placental ischemia-induced hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2013; 15;305(4):R397-403.
57. Stanley JL, Sulek K, Andersson IJ, Davidge ST, Kenny LC, Sibley CP, Mandal R, Wishart DS, Broadhurst DI, Baker PN. Sildenafil Therapy Normalizes the Aberrant Metabolomic Profile in the Comt(-/-) Mouse Model of Preeclampsia/Fetal Growth Restriction. *Sci Rep.* 2015; 15;5:18241.
58. Motta, C. Grosso, C. Zanuzzi, C. Molinero, D. Picco, N. Bellingeri, R. Alustiza, F. Barbeiro, C. Vivas, A. Romanini MC. Effect of Sildenafil on Pre-Eclampsia-Like Mouse Model Induced By L-Name. *Reprod Dom Anim* 2015; 50:611-16
59. Gillis EE, Mooney JN, Garrett MR, Granger JP, Sasser JM. Sildenafil Treatment Ameliorates the Maternal Syndrome of Preeclampsia and Rescues Fetal Growth in the Dahl Salt-Sensitive Rat. *Hypertension.* 2016; pii: HYPERTENSION

AHA.115.06071. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 26729752.

60. Samangaya RA, Mires G, Shennan A, Skillern L, Howe D, McLeod A, Baker PN. A randomised, double-blinded, placebo-controlled study of the phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil for the treatment of preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 2009 Aug;28(4):369-82.
61. Trapani AJ, Gonçalves LF, Trapani TF, Franco MJ, Galluzzo RN, Pires MM. Comparison between transdermal nitroglycerin and sildenafil citrate in intrauterine growth restriction: effect on uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery pulsatility index. Ultrasound Obstet Gynecol. 2015; doi: 10.1002/uog.15673
62. Dadelszen P, Dwinnell S, Magee LA, Carleton BC, Gruslin A, Lee B, Lim KI, Liston RM, Miller SP, Rurak D, Sherlock RL, Skoll MA, Wareing MM, Baker PN; Sildenafil citrate therapy for severe early-onset intrauterine growth restriction.BJOG. 2011. 118(5):624-8.
63. Ganzevoort W, Alirevic Z, von Dadelszen P, Kenny L, Papageorgiou A, van Wassenaer-Leemhuis A, Glud C, Mol BW, Baker PN. STRIDER: sildenafil therapy in dismal prognosis early-onset intrauterine growth restriction—a protocol for a systematic review with individual participant data and aggregate data meta-analysis and trial sequential analysis. Syst Rev. 2014;3:23.
64. Churchil, D. Duley, L. Thornton, JG. Jones, L. Interventionist versus expectant care for severe pre-eclampsia between 24 and 34 weeks' gestation (Review). Cochrane Database of Systematic Reviews. In: The Cochrane Library, Issue 11, Art. No. CD003106.
65. Haddad B, Deis S, Goffinet F, Paniel BJ, Cabrol D, Sibai BM. Maternal and perinatal outcomes during expectant management of 239 severe preeclamptic women between 24

- and 33 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190:1590–1597.
66. Sibai BM. Evaluation and management of severe preeclampsia before 34 weeks' gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2011. 205:191–98.
 67. Vigil-De Gracia P, Tejada OR, Minaca AC, et al. Expectant management of severe preeclampsia remote from term: a randomized, multicentre clinical trial: the MEXPRES Latin Study. *Am J Obst Gynecol.* 2013;209:425.e1–425.e8.
 68. Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Freidman SA. Aggressive versus expectant management of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks' gestation: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171:818–22.
 69. Sarsam DS, Shamden M, Al Wazan R. Expectant versus aggressive management in severe preeclampsia remote from term. *Singapore Med J.* 2008;49:698–703.
 70. Hall DR, Odendaal HJ, Steyn DW, et al. Expectant management of early onset, severe pre-eclampsia: maternal outcome. *BJOG* 2000;107:1252–7.
 71. Seri I, Evans J. Limits of viability: definition of the gray zone. *J Perinatol* 2008;28:S4–8.
 72. Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO). Comissões Nacionais Especializadas Ginecologia e Obstetrícia. Manual de gestação de alto risco. Rio de Janeiro: FEBRASGO 2011;21-32
 73. Bhide A., Acharya G., Bilardo C. M., et al. ISUOG practice guidelines: use of Doppler ultrasonography in obstetrics. *Ultrasound in Obstet Gynecol.* 2013;41(2):233–239

74. Ma L, Liu W, Huang Y. Perioperative management for parturients with pulmonary hypertension: experience with 30 consecutive cases. *Front Med.* 2012; 6(3):307-10.
75. Galiè N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, Fleming T, Parpia T, Burgess G, Branzi A, Grimminger F, Kurzyna M, Simonneau G. Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med.* 2005; 353:2148–2157.
76. Boyce E.G., Umland E.M. Sildenafil citrate: a therapeutic update. *Clin. Ther.* 2001;23(1):2–23.
77. Apgar V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Current Researches in Anesth Analg.* 1953; 32: 260–267.
78. Hadlock FP, Harrist RB, Martinez-Poyer J. In utero analysis of fetal growth: A sonographic weight standard. *Radiology* 1991; 181:129-33.
79. World Medical Association. Ethical principles for medical research involving human subjects. 59th WMA General Assembly, Seoul, October 2008. [acesso em 10 jan 2013]. Disponível em: <http://www.wma.net>
80. Lin TH, Su YN, Shih JC, Hsu HC, Lee CN. Resolution of high uterine artery pulsatility index and notching following sildenafil citrate treatment in a growth-restricted pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012; 40(5):609-10.
81. Downing J. Sildenafil for the treatment of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2010;29(2):248-50.
82. Manktelow, BN. Seaton, SE. Field, DJ. Draper, ES. Population-Based Estimates of In-Unit Survival for Very Preterm Infants. *Pediatrics* 2013;131(2):425-32
83. Panda, S. Das, A. Nowroz, HM. Sildenafil Citrate in Fetal Growth Restriction. *J Reprod Infertil* 2014;15(3):168-9

84. Luzi G, Caserta G, Iammarino G, Clerici G, Di Renzo GC. Nitric oxide donors in pregnancy: fetomaternal hemodynamic effects induced in mild preeclampsia and threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;14: 101–109.
85. Lees C, Valensise H, Black R, Harrington K, Byiers S, Romanini C, AMPcbell S. The efficacy and fetal–maternal cardiovascular effects of transdermal glyceryl trinitrate in the prophylaxis of preeclampsia and its complications: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12: 334–338.
86. Dunn, L. Flenady, V. Kumar, S. Reducing the risk of fetal distress with sildenafil study (RIDSTRESS): a double-blind randomized control trial. *J Transl Med* 2016. 14:15

APÊNDICE A

Artigo publicado na revista *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* - 2011

Ultrasound Obstet Gynecol 2011; 38: 389–394
Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com). DOI: 10.1002/uo.8983

Transdermal nitroglycerin in patients with severe pre-eclampsia with placental insufficiency: effect on uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery resistance indices

A. TRAPANI Jr*, L. F. GONÇALVES† and M. M. DE S. PIRES*

*Hospital of Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil; †Department of Obstetrics and Gynecology, Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, MI, USA

KEYWORDS: Doppler ultrasonography; fetal blood flow; glyceryl trinitrate; nitroglycerin; pre-eclampsia

ABSTRACT

Objectives To evaluate the effect of transdermal nitroglycerin on Doppler velocity waveforms of the uterine, umbilical and fetal middle cerebral arteries in patients with severe pre-eclampsia.

Methods This was a prospective study of 30 singleton pregnancies (gestational age range: 24–31 weeks) with severe pre-eclampsia and abnormal uterine and umbilical artery Doppler waveforms. We compared maternal blood pressure as well as the resistance index (RI) and the pulsatility index (PI) of the uterine, umbilical and fetal middle cerebral arteries before and after application of a transdermal nitroglycerin patch (average dose 0.4 mg/h) for a period of 3 days. Intra-day comparisons before and after administration of nitroglycerin and a comparison between days 0 (no patch) and 3 after administration of the first dose of nitroglycerin were performed using ANOVA for paired samples.

Results A significant decrease in the PI and RI of the uterine ($25.3 \pm 4.9\%$ and $21.2 \pm 6.2\%$, respectively, $P < 0.001$) and umbilical ($23.1 \pm 6.9\%$ and $19.7 \pm 6.1\%$, respectively, $P < 0.001$) arteries was noted when comparing the first day without medication against the third day with the patch. No significant change in the PI and RI of the middle cerebral artery was observed. The mean arterial blood pressure decreased from 119.5 ± 4.5 mmHg to 114.8 ± 4.4 mmHg ($P < 0.05$).

Conclusion The use of transdermal nitroglycerin in patients with severe pre-eclampsia is associated with a significant reduction in the RI and PI of the uterine and umbilical arteries, as well as of maternal blood pressure. Transdermal nitroglycerin does not affect the RI and PI of the fetal middle cerebral artery. Copyright © 2011 ISUOG. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

INTRODUCTION

Pre-eclampsia is one of the most frequent pregnancy complications, and, in its severe form, is one of the main causes of maternal and perinatal morbidity and mortality¹. The etiology and pathophysiology of pre-eclampsia have not yet been clearly established. Impaired immunological adaptation and genetic incompatibility seem to be involved in deficient trophoblastic implantation^{2,3}. Placental hypoxia and endothelial dysfunction may lead to pre-eclampsia through an exacerbated systemic inflammatory reaction⁴.

The definitive treatment for pre-eclampsia is delivery, particularly in severe cases with evident placental insufficiency. However, the potential benefits of early delivery have to be weighed against the risks of extreme prematurity.

Nitric oxide is a potent vasodilator, especially of the venules, and is also an inhibitor of platelet aggregation⁵. During pregnancy, nitric oxide is synthesized in the uteroplacental tissues and endothelial cells, helping to keep the vascular resistance of the fetoplacental and uterine circulations low⁶. The properties of nitric oxide donors can be potentially explored for the treatment of pre-eclampsia.

Glyceryl trinitrate (nitroglycerin, GTN) produces nitric oxide through a biotransformation pathway⁷. One of its limitations is the development of tolerance, which can be reduced with intermittent administration⁷. Headache is one of the few reported side effects⁷.

Nitric oxide donors have been previously studied in several obstetric complications, including premature labor^{8–10}, prevention of pre-eclampsia^{10–12}, intrauterine growth restriction¹³ and hypertensive crisis, and as a maintenance medication^{14–16}. Transdermal GTN is one such nitric oxide donor which reaches stable serum concentrations as early as 2 h after administration⁷. As

Correspondence to: Dr A. Trapani Jr., Division of Gynecology and Obstetrics, HUUFSC, R. Esteves Júnior 458/1204 Florianópolis, SC, Brazil, 88015-130 (e-mail: ginecoalbarto@yahoo.com.br)

Accepted: 18 February 2011

GTN is metabolized quickly, continuous administration is recommended, with the transdermal route being the most convenient mode of administration.

Doppler velocimetry is a non-invasive method used to evaluate resistance to blood flow in the uteroplacental and fetoplacental circulations. Previous smaller studies have suggested a potential benefit of GTN in patients with pre-eclampsia or placental insufficiency^{17–22}.

The objective of this study was to assess the effect of transdermal GTN on a specific group of women with severe pre-eclampsia associated with placental insufficiency at high risk for early delivery. Maternal blood pressure and uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery Doppler indices were compared before and after the administration of GTN.

PATIENTS AND METHODS

This was a prospective study conducted at the University Hospital of the Federal University of Santa Catarina, a non-profit teaching hospital, between March 2008 and October 2009. The study was approved by the Human Research Ethics Committee (project 33 808), and written informed consent was obtained from all patients.

Consecutive patients who fulfilled all of the following inclusion criteria were invited to participate in the study: singleton pregnancy with severe pre-eclampsia; gestational age between 24 weeks and 31 weeks and 6 days; intact membranes; abnormal uterine and umbilical artery Doppler waveforms; and admission to the hospital's high-risk unit for at least 24 h. Severe pre-eclampsia was defined as an arterial blood pressure of $\geq 160/110$ mmHg on two occasions, at least 6 h apart, during bed rest. All patients had at least 0.3 g of proteinuria in 24 h²³. Uterine artery Doppler velocity waveforms were considered abnormal when the mean RI between the left and right uterine arteries was ≥ 0.58 ²⁴. Umbilical artery Doppler velocity waveforms were considered abnormal when the RI was greater than the 95th percentile for gestational age²⁵. All patients were treated with 1–2 g of alpha-methyl dopa per day and all had already been receiving alpha-methyl dopa for at least 48 h before enrollment into the study. All patients had normal ductus venosus waveforms, normal amniotic fluid volume and a normal non-stress test at the time of admission. All fetuses had an estimated birth weight below the 50th percentile and 13 had an estimated birth weight below the 10th percentile for gestational age. The fetal condition was monitored by cardiotocography. Arterial blood pressure and proteinuria returned to normal 6–8 weeks after delivery.

Gestational age was calculated from the last menstrual period and was confirmed by ultrasound examination performed in the first half of pregnancy. Body mass index was defined as the patient's weight divided by the square of their height (kg/m^2)²⁶.

Patients with twin pregnancies, anemia, diabetes, previous hypertension or other chronic diseases, fetal malformations, known intolerance to GTN, serum creatinine > 1.0 mg/dL, fetal death, reversed flow of the

umbilical artery Doppler waveform, need for pregnancy interruption before the third day of medication, eclampsia or administration of an antihypertensive agent other than alpha-methyl dopa or magnesium sulfate were excluded from the study.

Doppler velocimetry was performed on a Toshiba Nemio 30 (Toshiba Medical Systems, Tokyo, Japan) ultrasound scanner, using a 3.75-MHz convex transducer. Patients were examined in the semi-Fowler position, during a period of absent fetal movements and breathing. A minimum of six uniform Doppler waveforms were measured.

The Doppler sample gate was adjusted according to vessel diameter, and the insonation angle was maintained as close to zero as possible. Pulsatility index (PI) and RI were automatically calculated by the equipment. Measurements were performed on the ascending branches of the right and left uterine arteries, at the point of apparent crossing with the external iliac arteries. The umbilical artery was evaluated at the free loop, near the placental insertion, while the middle cerebral artery was evaluated in an axial section of the brain at the level of the circle of Willis. Each sequence of measurements was performed in triplicate during each examination, and the results were averaged.

All Doppler examinations were performed by the same operator. To calculate the intra-examiner variability, we took into account the three sequences of measurements made at each examination. In about 20% of the examinations, a second examiner performed an extra set of measurements under the same conditions and without knowledge of the previous results. These values were used exclusively for calculating inter-examiner variability.

A 50-mg transdermal GTN patch (Novartis Pharma AG, Stein, Switzerland) was applied to the abdominal skin, releasing nitroglycerin at a rate of 0.4 mg/h. The dosage was kept constant during the study.

Doppler ultrasonography was always performed at 08.00 h (without the GTN patch), and between 12.00 h and 13.00 h on the same day. On the first day of the study, patients did not receive GTN (control day). During the next 3 days, the patch was applied after the first examination and removed at 22.00 h.

Measurement of arterial pressure was performed using a sphygmomanometer (mercury column) every 4 h, between 07.00 h and 23.00 h, always on the left arm, with the patient seated and with the fourth Korotkoff sound used to determine diastolic blood pressure. Mean arterial blood pressure (MAP) (diastolic pressure $+ 1/3$ [systolic pressure – diastolic pressure]) was used for comparisons.

The main outcome after transdermal nitroglycerin application was a change in the RI values of the uterine, umbilical or middle cerebral arteries, when compared with the values obtained before applying the patch. Secondary outcomes were the effect of GTN therapy on maternal blood pressure and the side effects of GTN therapy.

Data were tested for normality by applying the Kolmogorov–Smirnov test with a significance level of 5%. ANOVA for paired samples was used to compare

changes in mean RI and PI of the uterine, umbilical and middle cerebral arteries as well as the change in MAP before and after GTN administration. Tukey's test was used for post-hoc analysis, with a significance level of $P < 0.05$. Statistical analysis was performed using SPSS 8.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

We estimated that a sample size of 26 patients would be required to achieve 80% power (α 0.05) to detect a variation in mean umbilical artery PI of 0.16 (10%)¹⁷. As we anticipated a recruitment loss of rate of 20%, 33 participants were enrolled into the study.

RESULTS

Among the 33 patients who were initially enrolled, three could not follow the study protocol and were excluded from the final analysis: two patients had severe headaches requiring GTN patch removal, and a third patient with clinical symptoms and signs suggestive of imminent eclampsia received magnesium sulfate. Baseline characteristics of the study population are shown in Table 1.

Headache was the most common side effect, occurring in 26 (79%) of 33 patients. However, in only two (6%) cases was the pain severe enough to require interruption of the GTN treatment. The other patients had symptomatic relief with administration of analgesics and adaptation to the medication. Three (9%) cases showed hyperemia where the patch was applied, but there was no need to interrupt the study.

The intraexaminer variation coefficients for the PI and the RI were $3.5 \pm 2.1\%$ and $2.9 \pm 1.9\%$, respectively, for the uterine artery, $3.3 \pm 2.4\%$ and $3.1 \pm 2.2\%$, respectively, for the umbilical artery and $4.1 \pm 2.6\%$ and $3.6 \pm 2.5\%$, respectively, for the middle cerebral artery.

The interexaminer variation coefficients for the PI and the RI were $4.8 \pm 2.7\%$ and $4.0 \pm 2.5\%$, respectively, for the uterine artery, $4.5 \pm 2.5\%$ and $4.2 \pm 2.4\%$, respectively, for the umbilical artery and $4.9 \pm 2.9\%$ and $4.1 \pm 2.3\%$, respectively, for the middle cerebral artery.

RI and PI of the uterine, umbilical and middle cerebral arteries measured at 08.00 h, before GTN administration, did not vary significantly between days 1, 2, 3 and 4 (Table 2).

When compared with the first day (without GTN), examinations performed 4 h after GTN patch application

showed a significant decrease in the PI and RI of the uterine and umbilical arteries (Table 3 and Figures 1–6). No change in the PI or the RI of the middle cerebral artery was observed after transdermal administration of GTN.

The mean arterial blood pressure (MAP) decreased significantly with GTN use ($P < 0.05$) (Figure 7). This was also evident from the decrease of systolic arterial pressure from 152 ± 11 mmHg to 140 ± 7 mmHg ($P < 0.01$), and of diastolic arterial pressure from 110 ± 8 mmHg to 101 ± 6 mmHg ($P < 0.05$). Baseline maternal heart rate was 78 ± 12 beats per min (bpm), and it did not change significantly at any point. No fetal tachycardia, bradycardia or change in cardiocardiographic tracings occurred during the 4 days of the study.

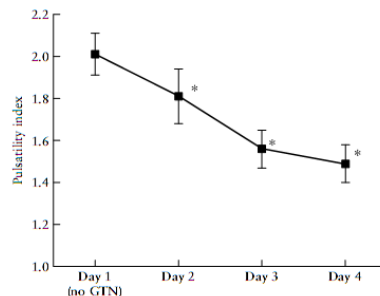


Figure 1 Pulsatility index of the uterine artery at 12.00 h on day 1 (without glyceryl trinitrate (GTN)) and 4 h after administration of GTN on days 2, 3 and 4. Mean and SD are shown. * $P < 0.001$ vs day 1.

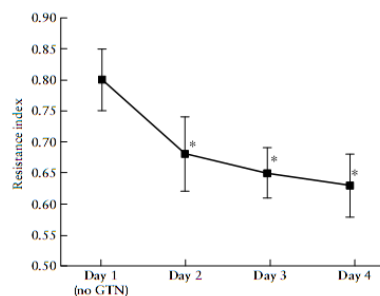


Figure 2 Resistance index of the uterine artery at 12.00 h on day 1 (without glyceryl trinitrate (GTN)) and 4 h after administration of GTN on days 2, 3 and 4. Mean and SD are shown. * $P < 0.001$ vs day 1.

Table 1 Clinical characteristics and baseline values in 30 women with pre-eclampsia treated with a nitroglycerin patch for 3 days

Parameter	Baseline data
Age (years)	23.7 ± 5.4
Gestational age on day 1 (weeks)	28.4 ± 1.5
Nulliparous	20 (66.6)
Body mass index	31.7 ± 5.7
Estimated fetal weight at admission (g)	937.7 ± 212.2
Gestational age at delivery (weeks)	30.0 ± 1.9
Apgar score <7 at 5 min	2 (6.6)
Birth weight (g)	1062.8 ± 289.3

Data are given as n (%) or mean ± SD.

Table 2 Comparison of resistance indices obtained at 08.00 h (without glyceryl trinitrate (GTN)) on day 1 and at 08.00 h on days 2, 3 and 4 before application of GTN patch

Artery	Day 1 (without GTN)	Day 2	Day 3	Day 4
Uterine				
PI	2.09 ± 0.12	2.11 ± 0.11	2.04 ± 0.09	2.03 ± 0.11
RI	0.77 ± 0.06	0.76 ± 0.06	0.77 ± 0.05	0.78 ± 0.07
Umbilical				
PI	1.90 ± 0.11	1.92 ± 0.12	1.84 ± 0.14	1.85 ± 0.11
RI	0.82 ± 0.07	0.80 ± 0.05	0.79 ± 0.08	0.80 ± 0.07
Middle cerebral				
PI	1.55 ± 0.06	1.48 ± 0.08	1.56 ± 0.06	1.54 ± 0.07
RI	0.70 ± 0.04	0.68 ± 0.03	0.71 ± 0.05	0.73 ± 0.05

Data are given as mean ± SD. PI, pulsatility index; RI, resistance index. There were no significant differences in measurements between days.

Table 3 Comparison of resistance indices obtained at 12.00 h on day 1 (without glyceryl trinitrate (GTN)) and 4 h after transdermal administration of GTN on days 2, 3 and 4

Artery	Day 1 (without GTN)	Day 2	Day 3	Day 4
Uterine				
PI	2.01 ± 0.10	1.81 ± 0.13*	1.56 ± 0.09*	1.50 ± 0.10*
RI	0.80 ± 0.05	0.68 ± 0.06*	0.65 ± 0.04*	0.63 ± 0.05*
Umbilical				
PI	1.86 ± 0.10	1.65 ± 0.12**	1.47 ± 0.12*	1.43 ± 0.13*
RI	0.81 ± 0.06	0.73 ± 0.05**	0.65 ± 0.06*	0.65 ± 0.05*
Middle cerebral				
PI	1.55 ± 0.05	1.57 ± 0.07	1.56 ± 0.06	1.59 ± 0.05
RI	0.69 ± 0.04	0.71 ± 0.03	0.72 ± 0.05	0.71 ± 0.05

Data are given as mean ± SD. PI, pulsatility index; RI, resistance index. * $P < 0.001$ vs day 1. ** $P < 0.05$ vs day 1.

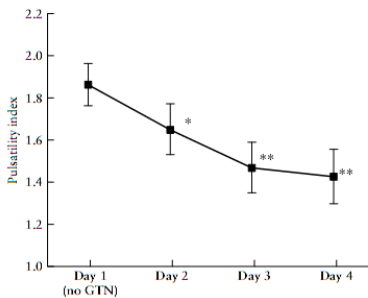


Figure 3 Pulsatility index of the umbilical artery at 12.00 h on day 1 (without glyceryl trinitrate (GTN)) and 4 h after administration of GTN on days 2, 3 and 4. Mean and SD are shown. * $P < 0.05$ vs day 1. ** $P < 0.001$ vs day 1.

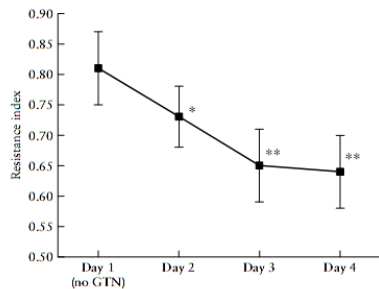


Figure 4 Resistance index of the umbilical artery at 12.00 h on day 1 (without glyceryl trinitrate (GTN)) and 4 h after administration of GTN on days 2, 3 and 4. Mean and SD are shown. * $P < 0.05$ vs day 1. ** $P < 0.001$ vs day 1.

DISCUSSION

A drug that could improve maternal and fetal hemodynamics in the setting of early severe pre-eclampsia is a desirable goal for at least palliation of this ominous and prevalent condition. In our study we showed that the application of a 50-mg transdermal GTN patch to

the maternal abdomen was associated with a significant decline in the RI of the uteroplacental (uterine arteries) and fetoplacental (umbilical arteries) circulation. No change was observed in the RI of the cerebral circulation (middle cerebral artery).

The decrease in uteroplacental vascular resistance with the use of intravenous, sublingual and transdermal GTN

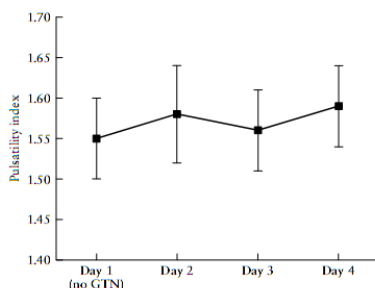


Figure 5 Pulsatility index of the middle cerebral artery at 12.00 h on day 1 (without glyceryl trinitrate (GTN)) and 4 h after administration of GTN on days 2, 3 and 4. Mean and SD are shown. Values obtained on days 2, 3 and 4 were not significantly different from that obtained on day 1.

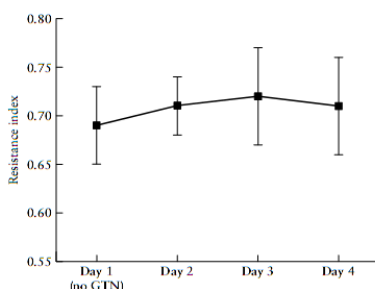


Figure 6 Resistance index of the middle cerebral artery at 12.00 h on day 1 (without glyceryl trinitrate (GTN)) and 4 h after administration of GTN on days 2, 3 and 4. Mean and SD are shown. Values obtained on days 2, 3 and 4 were not significantly different from that obtained on day 1.

has been demonstrated in previous studies of a smaller sample size and with a more heterogeneous enrollment criteria^{10,17,27}. In the present study, although no placebo was used, improvement in the uteroplacental circulation was evident when comparing the results before and 4 h after patch application.

Nitric oxide is a small molecule that easily crosses the placenta²⁸, and is known to cause dilation of the umbilical vessels *in vitro*¹⁹. The decrease in umbilical artery resistance to blood flow seen in the current study had been previously reported with both sublingual and intravenous administration routes^{10,18}. However, Cacciatore *et al.*¹⁷, in a study of 15 patients receiving transdermal GTN, found only a tendency towards a decrease in umbilical artery PI and RI before and after GTN administration. In

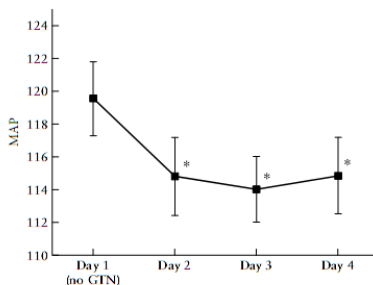


Figure 7 Mean arterial blood pressure (MAP) on day 1 (without medication), and on days 2, 3 and 4, during the use of glyceryl trinitrate (GTN). Mean and SD are shown. * $P < 0.05$ vs day 1.

the present study, probably because of a larger sample, the decrease in umbilical artery PI and RI was evident. Interestingly, Kähler *et al.*²⁷ demonstrated that transdermal GTN did not affect umbilical artery Doppler indices in normal patients without pre-eclampsia, whereas Grunewald *et al.*¹⁸ demonstrated that the decrease in the PI of the umbilical artery was more pronounced in patients who already had abnormal Doppler waveforms before the initiation of therapy, as was the case in our study. Grunewald *et al.* hypothesized that women with endothelial dysfunction may need a smaller endothelial concentration of nitric oxide for the same response as healthy women¹⁸. Other investigators demonstrated that the umbilical artery is less sensitive to endothelium-derived relaxing factor than are the chorionic plate arteries²⁹.

According to previous studies, the PI and the RI of the middle cerebral artery remained unaltered following GTN administration, indicating that the fetal cerebral arterial vascular tone is not dependent on external nitric oxide supply^{10,17,30}. When fetal hypoxemia occurs, there is a decrease in cerebral vascular resistance as a defense mechanism³¹. As GTN improves uterine and umbilical blood flow, a decrease in the compensatory central vasodilatation could be expected. We speculate that the improvement in uterine and umbilical blood flow was not sufficient to reverse the brain-sparing effect during the study period.

GTN caused a significant decrease in the MAP, as the patients were under stable doses of alpha-methyldopa. Similar results were demonstrated with intravenous^{20,32} and transdermal use¹⁷. None of the patients had severe hypotension or tachycardia in this study. It remains to be determined whether or not transdermal GTN could be used in association with other drugs to control arterial pressure in patients with pre-eclampsia.

Headache was the most common side effect, observed in 79% of the patients, a figure similar to that reported by other investigators^{18,20,30}. Headaches were well controlled with common analgesics and disappeared or

decreased with adaptation to the medication. In some cases, dose reduction was necessary. Only two cases required interruption of treatment.

In conclusion, transdermal nitroglycerin improved Doppler velocimetry parameters of the uterine arteries and umbilical artery without modifying fetal cerebral blood flow. A significant decrease in maternal blood pressure was also noted. Double-blind, randomized, placebo-controlled studies with a greater number of cases are needed in order to determine if transdermal GTN could be efficacious as adjuvant therapy in patients with severe pre-eclampsia.

REFERENCES

- Samadi AR, Mayberry RM, Zaidi AA. Maternal hypertension and associated pregnancy complications among African-American and other women in the United States. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 557.
- Robertson SA, Ingman WV, O'Leary S, Sharkey DJ, Tremellen KP. Transforming growth factor beta: a mediator of immune deviation in seminal plasma. *J Reprod Immunol* 2002; 57: 109–128.
- Ness RB, Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1365–1370.
- Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 499–506.
- Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002–2012.
- Learmont JG, Poston L. Nitric oxide is involved in flow-induced dilation of isolated human small fetoplacental arteries. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1056–1060.
- Hashimoto S, Kobayashi A. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyceryl trinitrate and its metabolites. *Clin Pharmacokinetics* 2003; 42: 205–221.
- Nassar AH, Usta IM. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of transdermal nitroglycerin for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 197: 325–326.
- Smith GN, Guo Y, Wen SW, Walker MC; Canadian Preterm Labor Nitroglycerin Trial Group. Secondary analysis of the use of transdermal nitroglycerin for preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 2010; 203: 565.e1–6.
- Luzi G, Caserta G, Iammarino G, Clerici G, Di Renzo GC. Nitric oxide donors in pregnancy: fetomaternal hemodynamic effects induced in mild preeclampsia and threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 14: 101–109.
- Meher S, Duley L. Nitric oxide for preventing preeclampsia and its complications. *The Cochrane Database Systematic Reviews* 2007; 18: CD006490.
- Ramsay B, De Belder A, Campbell S, Moncada S, Martin JF. A nitric oxide donor improves uterine artery diastolic blood flow in normal early pregnancy and in women at high risk of preeclampsia. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 76–78.
- Oyelese KO, Black RS, Lees CC, Campbell S. A novel approach to the management of pregnancies complicated by uteroplacental insufficiency and previous stillbirth. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 1998; 38: 391–395.
- Neri I, Valensise H, Facchinetti F, Menghini S, Romanini C, Volpe A. 24-hour ambulatory blood pressure monitoring: a comparison between transdermal glyceryl-trinitrate and oral nifedipine. *Hypertens Pregnancy* 1999; 18: 107–113.
- Silver HM. Acute hypertensive crisis in pregnancy. *Med Clin North Am* 1989; 73: 623–638.
- Davis DG, Brown PM. Re: glyceryl trinitrate (GTN) patches are unsuitable in hypertensive pregnancy. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 2001; 41: 474.
- Cacciatore B, Halmesmaki E, Kaaja R, Teramo K, Ylikorkala O. Effects of transdermal nitroglycerin on impedance to flow in the uterine, umbilical, and fetal middle cerebral arteries in pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179: 140–145.
- Grunewald C, Kublickas M, Carlström K, Lunell NO, Nisell H. Effects of nitroglycerin on the uterine and umbilical circulation in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1995; 86: 600–604.
- Sato N, Tanaka KA, Szlam F, Tsuda A, Arias ME, Levy JH. The vasodilatory effects of hydralazine, nicardipine, nitroglycerin, and fenoldopam in the human umbilical artery. *Anesth Analg* 2003; 96: 539–544.
- Cetin A, Yurtcu N, Guvenal T, Imir AG, Duran B, Cetin M. The effect of glyceryl trinitrate on hypertension in women with severe preeclampsia, HELLP syndrome, and eclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2004; 23: 37–46.
- Ramsay B, De Belder A, Campbell S, Moncada S, Martin JF. A nitric oxide donor improves uterine artery diastolic blood flow in normal early pregnancy and in women at high risk of preeclampsia. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 76–78.
- Thaler I, Amit A, Jakobi P, Iskovitz-Eldor J. The effect of isosorbide dinitrate on uterine artery and umbilical artery flow velocity waveforms at mid-pregnancy. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 838–843.
- Stegers EAP, Dadelzen PV, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Preeclampsia. *Lancet* 2010; 376: 631–644.
- Coleman MA, McCowan LM, North RA. Mid-trimester artery Doppler screening as a predictor of adverse pregnancy outcome in high-risk women. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000; 15: 7–12.
- Arduini D, Rizzo G. Normal values of pulsatility index from fetal vessels: a cross-sectional study on 1556 healthy fetuses. *J Perinat Med* 1990; 18: 165–172.
- Kabiru W, Raynor BD. Obstetric outcomes associated with increase in BMI category during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 928–932.
- Kähler C, Schleubner E, Möller A, Seewald HJ. Nitric oxide donors: effects on fetoplacental blood flow. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 115: 10–14.
- Bustard MA, Farley AE, Smith GN. The pharmacokinetics of glyceryl trinitrate with the use of the in vitro term human placental perfusion setup. *Am J Obstet Gynecol* 2002; 1: 187–190.
- Chaudhuri G, Buga GM, Gold ME, Wood KS, Ignarro JL. Characterization and actions of human umbilical endothelium-derived relaxing factor. *Br J Pharmacol* 1991; 102: 331–336.
- Lees C, Valensise H, Black R, Harrington K, Byiers S, Romanini C, Campbell S. The efficacy and fetal–maternal cardiovascular effects of transdermal glyceryl trinitrate in the prophylaxis of preeclampsia and its complications: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12: 334–338.
- Baschat AA, Gembruch U. The cerebroplacental Doppler ratio revisited. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2003; 21: 124–127.
- Manzur-Verástegui S, Mandeville PB, Gordillo-Moscoso A, Hernández-Sierra JF, Rodríguez-Martínez M. Efficacy of nitroglycerine infusion versus sublingual nifedipine in severe preeclampsia: a randomized, triple-blind, controlled trial. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2008; 35: 580–585.

APÊNDICE B

Artigo publicado na revista *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology* - 2015

Comparison between transdermal nitroglycerin and sildenafil citrate in intrauterine growth restriction: effect on uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery pulsatility index

TRAPANI Jr, Alberto*

GONÇALVES, Luis Flavio† θ

TRAPANI, Thamyris Finger‡

FRANCO, Mario Julio*

GALLUZZO, Roberto Noya*

PIRES, Maria Marlene de Souza §

*Hospital of Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil;

†Department of Obstetrics and Gynecology, Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, MI, USA; θDepartment of Radiology, Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, MI, USA;

‡University of Southern Santa Catarina, Medical School, Palhoça, SC, Brazil;

§Postgraduate Program in Medical Sciences, Federal University of Santa Catarina, Florianópolis, SC, Brazil

Corresponding author: Alberto Trapani Jr., MD, Division of Gynecology and Obstetrics, HU/UFSC, R. Esteves Júnior 458/802 Florianópolis, SC, Brazil, 88015-130

<p>This article has been accepted for publication and undergone full peer review but has not been through the copyediting, typesetting, pagination and proofreading process, which may lead to differences between this version and the Version of Record. Please cite this article as doi: 10.1002/uog.15673</p>

Email: ginecoalberto@yahoo.com.br

The authors do not have any potential conflicts of interest.

Short title: GTN/Sildenafil in IUGR

ABSTRACT

Objectives *To evaluate the effect of transdermal nitroglycerin (GTN) and sildenafil citrate on Doppler velocity waveforms of the uterine, umbilical and fetal middle cerebral arteries in patients with intrauterine growth restriction (IUGR).*

Methods *This was a prospective study of 35 singleton pregnancies (gestational age range: 24–31 weeks) with IUGR and abnormal uterine and umbilical artery Doppler waveforms. We compared maternal arterial blood pressure as well as Z-scores for the pulsatility index (PI) of the uterine, umbilical and fetal middle cerebral arteries (MCA) before and after application of either a transdermal nitroglycerin patch (average dose 0.4 mg/h), oral sildenafil citrate (50 mg) or placebo. Statistical analysis was performed using ANOVA for paired samples.*

Results *There was a significant decrease in uterine artery PI with both GTN (21.3%) and sildenafil citrate (20.2%). A significant reduction in umbilical artery PI was also observed for both GTN (19.2%) and sildenafil citrate (18.4%). No difference in Doppler PI was observed for uterine and umbilical arteries when GTN and sildenafil groups were compared. No Doppler velocimetry changes were observed for the placebo group. No significant change in MCA PI was observed in any of the groups. Maternal arterial blood pressure decreased with both GTN and sildenafil citrate.*

Conclusion *The use of transdermal nitroglycerin or sildenafil citrate in patients with IUGR is associated with a significant reduction uterine and umbilical artery Doppler PI, as well as of maternal arterial blood pressure. Neither drug affected MCA Doppler PI.*

KEYWORDS

Doppler ultrasonography, fetal growth restriction, nitroglycerin, sildenafil citrate, phosphodiesterase inhibitors

INTRODUCTION

Intrauterine growth restriction (IUGR) is one of the most common pregnancy complications and a major cause of iatrogenic prematurity. The most frequent etiology for IUGR is abnormal placentation, which results is frequently associated with impaired placental blood flow.¹ Growth-restricted fetuses with severe impairment of umbilical artery blood flow are at increased risk of adverse outcomes such as intrauterine fetal demise (IUFD) and neonatal death, as well as increased neonatal morbidity, including hypoglycemia, hyperbilirubinemia, hypothermia, intraventricular hemorrhage, necrotizing enterocolitis, seizures, sepsis and respiratory distress syndrome.¹⁻²

Furthermore, epidemiologic studies have shown that IUGR fetuses are predisposed to the development of cognitive delay in childhood as well as adulthood diseases (e.g., obesity, type 2 diabetes mellitus, coronary artery disease, and stroke).³

In normal pregnancies, trophoblast produces nitric oxide (NO), which is a potent venous and arterial vasodilator that also inhibits platelet aggregation. In both preeclampsia and IUGR, placental hypoxia and endothelial dysfunction resulting from inflammation are associated with decreased release of nitric oxide and increased phosphodiesterase activity (PDE-5).^{4,5}

Therefore, nitric oxide donors, which are known PDE-5 inhibitors, have potential benefit for both prevention as well as treatment of IUGR.

Glyceryltrinitrate (nitroglycerin, GTN) produces nitric oxide through a biotransformation pathway.⁶ Some studies have demonstrated positive results, mainly at hemodynamic markers.⁷ One of its limitations is the development of tolerance, which can be reduced by intermittent administration.⁶ In addition, headache is a frequent side effect that limits the use of GTN during pregnancy.⁶

Phosphodiesterase (PDE-5) is an enzyme that metabolizes cyclic GMP. PDE-5 inhibition results in cGMP increase and consequent vasodilatation. Therefore, phosphodiesterase inhibitors have the potential to achieve similar therapeutic goals when compared to nitric oxide, but may not have its limitations (i.e. tolerance and headaches). The most studied PDE-5 inhibitor is sildenafil citrate, which has shown promising outcomes both *in vitro*⁸ and in animal studies.^{9,10}

The objective of this study is to compare the effect of transdermal GTN and sildenafil citrate on a specific group of women with IUGR associated with placental insufficiency at high risk for early delivery. We compared maternal blood pressure, uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery (MCA)

Doppler indices before and after the administration of transdermal GTN, sildenafil citrate or placebo in a randomized fashion.

PATIENTS AND METHODS

This was a prospective study conducted at the University Hospital of the Federal University of Santa Catarina, a non-profit teaching hospital, between May 2013 and October 2014. The study was approved by the Human Research Ethics Committee (project 33 808/271.404), and written informed consent was obtained from all patients.

Consecutive patients who fulfilled all of the following inclusion criteria were invited to participate in the study: singleton pregnancy with IUGR; gestational age between 24 weeks and 31 weeks and 6 days; intact membranes; abnormal uterine and umbilical artery Doppler waveforms and admission to the hospital's high-risk unit for at least 24 h. IUGR was defined as estimated fetal weight <10th percentile.^{1,11} Exclusion criteria were aneuploidy, congenital anomalies, syndromes or congenital infection. Uterine artery and umbilical artery Doppler velocity waveforms were considered abnormal when the PI was greater than the 95th percentile for gestational age.^{12,13} All patients

had normal ductus venosus waveforms. Amniotic fluid volume and non-stress tests were normal at the time of admission.

Gestational age was calculated from the date of the last menstrual period and was confirmed by ultrasound examination performed in the first half of the pregnancy. Body mass index was defined as maternal weight divided by the square of their height (kg/m^2).¹⁴

Patients with twin pregnancies, anemia, diabetes, previous hypertension or other chronic diseases, those receiving magnesium sulfate, pregnancies complicated by fetal malformations, known aneuploidy, syndrome or congenital infection, known intolerance to GTN or sildenafil, serum creatinine $>1.0 \text{ mg/dL}$, fetal death, reversed flow of umbilical artery Doppler waveform, eclampsia and those taking medications that interact with GTN or sildenafil were excluded.

Patients were randomized into three groups: (1) placebo group, (2) transdermal nitroglycerin group and (3) sildenafil group. Placebo and sildenafil groups were double-blinded. Patients were assigned to each treatment group based on blocked randomization with sealed opaque envelopes.

Doppler ultrasonography and measurement of maternal arterial blood pressure were always performed before and 2-3 hours after receiving medication or placebo.

A 50-mg transdermal GTN patch (Novartis Pharma AG, Stein, Switzerland) was applied to the abdominal skin, releasing nitroglycerin at a rate of 0.4 mg/h . Sildenafil citrate was administered orally at a dose of 50mg (Pfizer, Guarulhos, SP, Brazil). Placebo capsules were identical to sildenafil citrate and were provided by the pharmacy service of the University Hospital of Federal

University of Santa Catarina. GTN and sildenafil citrate doses were selected based on safety profile and favorable results from previous studies.^{7,15,16}

Doppler velocimetry was performed on a Toshiba Xario SSA-660A (Otawara, Tochigi, Japan) ultrasound scanner, using a 3.5 MHz convex probe. Patients were examined in semi-Fowler position, during a period of absent fetal movements and breathing. A minimum of six uniform Doppler waveforms were measured. The Doppler sample gate was adjusted according to vessel diameter, and the insonation angle was maintained as close to zero as possible. Pulsatility index (PI) was automatically calculated by the equipment. Measurements were performed on the ascending branches of the right and left uterine arteries at the point of apparent crossing with the external iliac arteries. Umbilical artery Doppler was obtained on a free loop, while MCA Doppler was evaluated in an axial section of the brain at the level of the circle of Willis. Each sequence of measurements was performed in triplicate during each examination and the results averaged. The same operator performed all Doppler examinations.

Maternal arterial blood pressure measurements were performed using a sphygmomanometer (mercury column, always on the left arm, with the patient sitting and with the fourth Korotkoff sound used to determine diastolic blood pressure). Mean arterial blood pressure (MAP) ($\text{diastolic pressure} + 1/3 [\text{systolic pressure} - \text{diastolic pressure}]$) was used for comparisons.

The main outcome was a change in PI values of the uterine, umbilical or middle cerebral arteries compared with values obtained before medication.

Secondary outcomes were the effect of therapy on maternal blood pressure and immediate side effects of sildenafil or GTN.

The data were tested for normality with the Kolmogorov–Smirnov test with a significance level of 5%. ANOVA for paired samples was used to compare changes in mean Z-score of PI, for uterine, umbilical and middle cerebral arteries as well as change in maternal blood pressure before and after GTN administration. Tukey's test was used for post-hoc analysis, with a significance level of $P < 0.05$. Statistical analysis was performed using SPSS 20.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). We estimated that a sample size of 12 patients would be required to achieve 80% power (alpha 0.05) to detect a variation in mean uterine artery PI of 0.20 (20%).⁷

RESULTS

Thirty-six singleton pregnancies meeting inclusion criteria were divided into three groups (Table 1). One pregnancy was excluded because she had intense headache with GTN and removed the patch before performing the Doppler examination.

(Table 1)

Headache was the most common side effect: five cases in the GTN group (41.7%), two in the sildenafil group (16.7%) and one in the placebo group (8.3%) (Fisher's exact test, $p = 0.21$). Two patients in the GTN group (16.7%) and one in the sildenafil group (8.35) had significant facial flushing (Fisher's exact test, $p = 0.76$)

Uterine and umbilical arteries PI z-scores decreased with the use of GTN and sildenafil. No change was observed for MCA PI z-scores. Similar results were observed with the use of sildenafil (Table 2).

Table 2

MAP decreased significantly with both GTN and sildenafil ($P < 0.05$) (Table 3).

Table 3

Baseline maternal heart rate was 85 ± 13 bpm and did not change significantly at any point. No fetal tachycardia or bradycardia occurred during the study.

Excluding patients with diagnosis of pre eclampsia, the variation of MAP was not statistically significant in either group.

There were no neonatal deaths. No difference in neonatal complications was observed for neonates whose mothers received GTN, sildenafil citrate, or placebo during pregnancy (table 4).

Table 4

DISCUSSION

A drug that could improve maternal and fetal hemodynamics in the setting of early intrauterine growth restriction has potential benefit for at least palliation of this ominous condition. This study shows that sildenafil citrate and GTN transdermal application are efficient to decrease resistance to blood flow in the uteroplacental (uterine arteries) and fetoplacental (umbilical arteries)

circulations, as well as mean maternal blood pressure, with no change in resistance to blood flow in the fetal cerebral circulation (middle cerebral artery).

The decrease in uteroplacental vascular resistance with the use of intravenous, sublingual and transdermal GTN has been demonstrated in previous studies of a smaller sample size and with more heterogeneous enrollment criteria.^{17,18,19,20} Some authors have also shown a significant improvement in umbilical arterial flow in severe preeclampsia, especially when already modified before medication.^{7,21}

Headache was the most common side effect, observed in 41.7% of patients having a GTN patch and 16.7% of those receiving sildenafil citrate. Similar results have reported by other studies.^{15,21,22,23} The high prevalence of headache using GTN is the main limiting factor for its clinical application in the context of placental vasculopathy.¹⁶

Despite a few negatives studies^{5,24}, sildenafil citrate use has shown promise both *in vitro* as well as in animal studies in the context of IUGR^{8,25,26,27} and pre-eclampsia.^{28,29,30} The vasodilator properties of sildenafil were of concern to us, since a drop in maternal blood pressure without a concomitant increase in blood flow in the uterine artery could aggravate placental under perfusion.

In a previous case-control study by von Dadelszen et al,³¹ the use of sildenafil citrate (25 mg, 3 times daily until delivery) in pregnancies complicated by severe IUGR (defined as abdominal circumference < 5th percentile and either gestational age < 25 weeks or estimated fetal weight < 600 grams) was associated with a significant increase in abdominal circumference compared to

the control group (OR 12.9; 95% CI 1.3-126). However, hemodynamic changes to the uteroplacental, fetoplacental, or fetal cerebral circulations were not evaluated in that study.

The decrease in uterine and umbilical artery PIs with the use of sildenafil has been previously shown in case reports^{32,33} as well as in randomized double-blinded placebo-controlled study in IUGR fetuses by Dastjerdi et al.³⁴ According to previous studies, the PI of the middle cerebral artery remained unaltered following GTN administration, suggesting that fetal cerebral arterial vascular tone is not dependent on external nitric oxide supply.^{7,17,18,23} The similar results from our study give further support this observation.

Reduction in MAP, significant in patients with hypertension and IUGR without compromising uterine artery blood flow, suggests that either GTN or sildenafil may be useful as antihypertensive drugs in the context of placental vascular insufficiency.

We must reinforce the fact that this study was done with cases of IUGR associated with placental vasculopathy already evident on Doppler examination, for which the pathophysiology is similar to preeclampsia. IUGR cases arising from other causes are unlikely to experience similar benefits.

It was important to show that sildenafil has a hemodynamic action similar to GTN, because it has a better therapeutic profile. Double blind randomized studies, with early initiation of medication and evaluation of neonatal outcomes, are needed to confirm the therapeutic potential of sildenafil in IUGR. A large international study under way (STRIDER) may provide definitive answers to these questions.³⁵

REFERENCES

1. ACOG Practice bulletin no. 134: fetal growth restriction. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2013; **121**(5):1122-33.
2. Vergani P, Roncaglia N, Locatelli A, Andreotti C, Crippa I, Pezzullo JC, et al. Antenatal predictors of neonatal outcome in fetal growth restriction with absent end-diastolic flow in the umbilical artery. *Am J Obstet Gynecol* 2005; **193**:1213–8.
3. Pallotto EK, Kilbride HW. Perinatal outcome and later implications of intrauterine growth restriction. *Clin Obstet Gynecol* 2006; **49**:257–69.
4. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; **329**: 2002–2012.
5. Miller SL, Loose JM, Jenkin G, Wallace EM. The effects of sildenafil citrate (Viagra) on uterine blood flow and well being in the intrauterine growth-restricted fetus. *Am J Obstet Gynecology*.2009; **200**(102):e1–7.
6. Hashimoto S, Kobayashi A. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of glyceryltrinitrate and its metabolites. *Clin Pharmacokinetics* 2003; **42**: 205–221.
7. Trapani A Jr, Gonçalves LF, Pires MMS. Transdermal nitroglycerin in patients with severe pre-eclampsia with placental insufficiency: effect on uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery resistance indices. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; **38**: 389–94.

8. Wareing M, Myers JE, O'Hara M, Baker PN. Sildenafil citrate (Viagra) enhances vasodilatation in fetal growth restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; **90**(5):2550-5.
9. Cauli O, Herraiz S, Pellicer B, Pellicer A, Felipe V. Treatment with sildenafil prevents impairment of learning in rats born to pre-eclamptic mothers. *Neuroscience.* 2010; **171**(2):506-12.
10. Coppage KH, Sun X, Baker RS, Clark KE. Expression of phosphodiesterase 5 in maternal and fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; **193**(3 Pt 2):1005-10
11. Hadlock FP, Harrist RB, Martinez-Poyer J. In utero analysis of fetal growth: a sonographic weight standard. *Radiology.* 1991; **181**(1):129-33.
12. Uteroplacental circulation, vol.1. In Merz E (Ed). *Ultrasonography in Obstetrics and Gynecology.* Stuttgart, New York, Thieme, 2005. pp 469-480, 613.
13. Acharya G, Wilsgaard T, Berntsen GK, Maltau JM, Kiserud T. Reference ranges for serial measurements of umbilical artery Doppler indices in the second half of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; **192**(3):937-44.
14. Kabiru W, Raynor BD. Obstetric outcomes associated with increase in BMI category during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; **191**: 928–932.
15. Samangaya RA, Mires G, Shennan A, Skillern L, Howe D, McLeod A, Baker PN. A randomised, double-blinded, placebo-controlled study of the phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil for the treatment of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2009; **28**: 369–82.

16. Davis DG, Brown PM. Re: glyceryltrinitrate (GTN) patches are unsuitable in hypertensive pregnancy. *Aust N Z J ObstetGynaecol*2001; **41**: 474.
17. Luzi G, Caserta G, Iammarino G, Clerici G, Di Renzo GC. Nitric oxide donors in pregnancy: feto maternal hemodynamic effects induced in mild preeclampsia and threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; **14**: 101–109.
18. Cacciatore B, Halmesmäki E, Kaaja R, Teramo K, Ylikorkala O. Effects of transdermal nitroglycerin on impedance to flow in the uterine, umbilical, and fetal middle cerebral arteries in pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1998; **179**:140–145.
19. Kähler C, Schleubner E, Möller A, Seewald HJ. Nitric oxide donors: effects on fetoplacental blood flow. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; **115**: 10–14.
20. Johal T, Lees CC, Everett TR, Wilkinson IB. The nitric oxide pathway and possible therapeutic options in pre-eclampsia. *Br J Clin Pharmacol.* 2014; **78**(2):244-57.
21. Grunewald C, Kublickas M, Carlström K, Lunell NO, Nisell H. Effects of nitroglycerin on the uterine and umbilical circulation in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol*1995; **86**: 600–604.
22. Cetin A, Yurtcu N, Guvenal T, Imir AG, Duran B, Cetin M. The effect of glyceryl trinitrate on hypertension in women with severe preeclampsia, HELLP syndrome, and eclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2004; **23**: 37–46.

23. Lees C, Valensise H, Black R, Harrington K, Byiers S, Romanini C, Campbell S. The efficacy and fetal-maternal cardiovascular effects of transdermal glyceryl trinitrate in the prophylaxis of preeclampsia and its complications: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; **12**:334–338.
24. Nassar AH, Masrouha KZ, Itani H, Nader KA, Usta IM. Effects of sildenafil in Nw-nitro-L-arginine methyl ester-induced intrauterine growth restriction in a rat model. *Am J Perinatol* 2012; **29**: 429–34.
25. López-Tello J, Arias-Alvarez M, González-Bulnes A, Astiz S, García-García RM, Rodríguez M, Lorenzo PL, and Rebollar P. Sildenafil citrate modifies fetoplacental development in a rabbit model of intrauterine growth restriction. *Reprod. Fertil. Dev.* 2014; **27**, 138–139.
26. Stanley JL, Andersson IJ, Poudel R, Rueda-Clausen CF, Sibley CP, Davidge ST, Baker PN. Sildenafil citrate rescues fetal growth in the catechol-O-methyl transferase knockout mouse model. *Hypertension* 2012; **59**: 1021–8.
27. Villanueva-García D, Mota-Rojas D, Hernández-González R, Sánchez-Aparicio P, Alonso-Spilsbury M, Trujillo-Ortega ME, Necoechea RR, Nava-Ocampo AA. A systematic review of experimental and clinical studies of sildenafil citrate for intrauterine growth restriction and pre-term labour. *J Obstet Gynaecol.* 2007; **27**(3):255-9.
28. George EM, Palei AC, Dent EA, Granger JP. Sildenafil attenuates placental ischemia-induced hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2013; **305**(4):397-403

29. Karasu E, Kayacan N, Sadan G, Dinc B. Endothelial dysfunction in the human umbilical artery due to preeclampsia can be prevented by sildenafil. *Clin Exp Hypertens*. 2012; **34**(2):79-85
30. Wareing M, Myers JE, O'hara M, Kenny LC, Warren AY, Taggart MJ, Skillern L, Machin I, Baker PN. Effects of aphosphodiesterase-5(PDE5) inhibitor on endothelium-dependent relaxation of myometrial small arteries. *Am J Obstet Gynecol*. 2004; **190**(5):1283-90.
31. von Dadelszen P, Dwinnell S, Magee LA, Carleton BC, Gruslin A, Lee B, Lim KI, Liston RM, Miller SP, Rurak D, Sherlock RL, Skoll MA, Wareing MM, Baker PN; Research into Advanced Fetal Diagnosis and Therapy (RAFT) Group. Sildenafil citrate therapy for severe early-onset intrauterine growth restriction. *BJOG*. 2011; **118**(5):624-8.
32. Panda S, Das A, Md Nowroz H. Sildenafil citrate in fetal growth restriction. *J Reprod Infertil*. 2014; **15**(3):168-9.
33. Lin TH, Su YN, Shih JC, Hsu HC, Lee CN. Resolution of high uterine artery pulsatility index and notching following sildenafil citrate treatment in a growth-restricted pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2012; **40**(5):609-10.
34. Dastjerdi MV, Hosseini S, Bayani L. Sildenafil citrate and uteroplacental perfusion in fetal growth restriction. *J Res Med Sci*. 2012; **17**(7):632-6.
35. Ganzevoort W, Alfrevic Z, von Dadelszen P, Kenny L, Papageorgiou A, van Wassenae-Leemhuis A, Gluud C, Mol BW, Baker PN. STRIDER: Sildenafil Therapy in dismal prognosis early-onset intrauterine growth restriction a protocol for a systematic review with individual participant

data and aggregate data meta-analysis and trial sequential analysis. Syst
Rev. 2014, 11;3:23

Table 1 Clinical characteristics and baseline values

<i>Parameter</i>	<i>GTN (n=11)</i>	<i>Sildenafil (n=12)</i>	<i>Placebo (n=12)</i>
Age (years)	24.6 ± 7.2	23.6 ± 6.2	25.8 ± 8.1
Gestational age (weeks)	29.3 ± 2.4	28.5 ± 2.1	30.1 ± 2.0
Nulliparous	6 (55)	5 (42)	5 (42)
Body mass index	32.5 ± 8.3	30.5 ± 7.5	34.6 ± 9.2
Estimated fetal weight (g)	856 ±185	910 ±178	813 ±192
Pre-eclampsia	6 (55)	6 (50)	5 (42)
Smokers	1 (9)	0 (0)	1 (8)

Data are given as n (%) or mean ± SD.

There were no significant differences between the groups

Table 2 Comparison of PI obtained before and after administration of GTN, sildenafil or placebo.

<i>Groups</i>	<i>Artery</i>	<i>before</i>		<i>after</i>		<i>P*</i>
		PI	Z-score	PI	Z-score	
GTN	uterine	2.05 ± 0.15	3.07±0.86	1.62 ± 0.14	2.29±0.69	<0.001
	umbilical	1.52 ± 0.13	3.50±0.61	1.23 ± 0.12	1.61±0.51	<0.001
	MCA	1.64 ± 0.09	1.71±0.40	1.72± 0.09	1.67±0.44	NS
Sildenafil	uterine	2.01 ± 0.14	2.67±0.76	1.60 ± 0.12	2.29±0.69	<0.001
	umbilical	1.48 ± 0.13	3.10±0.53	1.21 ± 0.13	1.72±0.58	<0.001
	MCA	1.58 ± 0.10	1.68±0.38	1.67 ± 0.15	1.59±0.44	NS
Placebo	uterine	1.98 ± 0.15	2.61±0.71	2.02 ± 0.14	2.77±0.78	NS
	umbilical	1.46± 0.12	3.08±0.53	1.40± 0.11	3.02±0.51	NS
	MCA	1.62 ± 0.11	1.70±0.38	1.71 ± 0.12	1.60±0.38	NS

*Z-score PIs compared with ANOVA for paired samples. Data reported as mean ± SD.

PI, pulsatility index. NS, no significant differences.

Table 3 Comparison of mean arterial blood pressure (MAP) obtained before and after administration of the drug or placebo

<i>Groups</i>	<i>MAP before</i>	<i>MAP after</i>	<i>Variation (%)</i>	<i>p</i>
GTN	110 ± 6.9	98 ± 6.1	- 12 (10,9)	<0.05
Sildenafil	108 ± 7.1	92 ± 5.6	- 16 (14.5)	<0.05
Placebo	114 ± 6.6	110 ± 6.2	- 4 (3.5)	NS

Data are given as mean ± SD

Table 4. Infant adverse events

<i>Adverse event</i>	<i>GTN</i> <i>(n=11)</i>	<i>Sildenafil</i> <i>(n=12)</i>	<i>Placebo</i> <i>(n=12)</i>	<i>P*</i>
Surfactant deficient lung disease	4(36.4%)	3(25%)	4(33.3%)	0.90
Infection	1(9.1%)	0	1(8.3%)	0.76
Intraventricular hemorrhage	0	1(8.3%)	1(8.3%)	0.62
Hypotension	1(9.1%)	0	0	0.33
Necrotizing enterocolitis	0	0	1(8.3%)	0.37
Seizure	0	1(8.3%)	0	0.37

Data is number of events (n) and percentage (%).

*Fisher's exact test for all comparisons

APÊNDICE C – Artigo submetido a revista *Obstetrics & Gynecology*

Perinatal and hemodynamic evaluation of sildenafil citrate for preeclampsia treatment: a double-blind randomized placebo-controlled study

Abstract

Objective: To evaluate if therapy with sildenafil citrate in women with preeclampsia improves hemodynamic status and perinatal outcomes.

Material and methods: 100 singleton pregnancies diagnosed with preeclampsia between 24 and 33 weeks were randomized into two groups. The first group was allocated to oral sildenafil citrate 50 mg every 8 hours and the second group to placebo. Study outcomes included the time elapsed between randomization and delivery, changes in resistance indices of uterine, umbilical and middle cerebral arteries by Doppler velocimetry, maternal and neonatal outcomes adverse events. Data analysis was based on intention to treat.

Results: 50 patients were randomized to each group. Time between randomization and delivery was on average 4 days longer for the group treated with sildenafil (sildenafil: 14.4 days, 95% CI 12.5-16.6 days vs. placebo: 10.4 days, 95% CI 8.4-12.3 days, $p = 0,008$). Regarding Doppler velocimetry, treatment with sildenafil was associated with a significant reduction in the pulsatility index of uterine and umbilical arteries (22.5% and 18,5%, respectively, $P < 0.001$). Maternal blood pressure control was also better with sildenafil (the mean arterial blood pressure decreased from 116.4 ± 5.1 mmHg to 100.3 ± 5.6 mmHg, $P < 0.05$). There was no difference in perinatal morbidity and mortality and was also no difference in the rate of adverse effects between the two groups.

Conclusion: Therapy with sildenafil citrate for women with preeclampsia was associated with pregnancy prolongation of approximately 4 days compared to placebo. Patients receiving sildenafil also experienced improved blood pressure control as well as decreased resistance to blood flow in the uteroplacental and fetal circulations. However, no difference in perinatal outcome was noted in this study.

Keywords: Preeclampsia. Sildenafil Citrate. Phosphodiesterase Inhibitors. Doppler.

Introduction

Hypertensive disorders of pregnancy complicated approximately 10% of pregnancies worldwide, constituting on the greatest causes of maternal and perinatal morbidity and mortality.¹ Preeclampsia is a multisystem disease for which delivery is currently the only definitive treatment. However, potential benefits of early delivery must be weighed against the risks of extreme prematurity.

Previous studies have shown that expectant management of preeclampsia in the context of extreme prematurity may improve perinatal outcomes.^{2,3} Indeed, it has been estimated that for each additional day of

pregnancy prolongation between 24 and 32 weeks, there is a non-linear corresponding gain of 1% in fetal survival.⁴

The etiology and pathophysiology of preeclampsia have not been clearly established, impaired immunological adaptation and genetic incompatibility seem to be involved in deficient trophoblastic implantation.^{5,6} Placental hypoxia and endothelial dysfunction may lead to preeclampsia through an exacerbated systemic inflammatory reaction.⁷

Nitric oxide is a potent vasodilator, particularly for the venules, besides being an inhibitor of platelet aggregation.⁸ During pregnancy, nitric oxide is synthesized in uteroplacental tissues and endothelial cells, helping to keep the resistance in the utero- and fetoplacental circulations low.⁹

Nitric oxide donors have been previously studied in several obstetric complications, including the prevention and treatment of preeclampsia.^{10,11} Collectively, these studies show an improvement in utero- and fetoplacental vascular resistance; however, no clinical improvement has been demonstrated. Limitations included collateral effects such as severe headache, small number of patients, and tolerance induction.

Phosphodiesterase (PDE-5) is an enzyme that metabolizes cyclic GMP. PDE-5 inhibition results in cGMP increase and vasodilation. Therefore, PDE-5 inhibitors have the potential to achieve similar therapeutic goals when compared to nitric oxide. A potential advantage of PDE-5 inhibitors is that it may overcome the main limitation to nitric oxide use in pregnancy, i.e., tolerance and headaches. The most studied PDE-5 inhibitor is sildenafil citrate, which has previously shown promising outcomes both *in vitro*¹² and in animal studies.^{13,14}

In this study, we evaluate the use of sildenafil citrate for the treatment of singleton pregnancies complicated by preeclampsia. We hypothesize that the potential increase in uteroplacental and fetoplacental blood flow with the use of sildenafil citrate may be associated with pregnancy prolongation and improved maternal and perinatal outcomes.

Patients and Methods

We conducted a randomized, double-blinded, placebo controlled trial designed to evaluate the efficacy and safety of sildenafil citrate in preterm pregnancies complicated by preeclampsia. The study was conducted at the high-risk obstetrical unit of the University Hospital of Federal University of Santa Catarina, Florianopolis, Brazil, between June 2013 and October 2015. The study was approved the hospital ethics committee (platform Brazil/SISNEP, study number 01716812.9.0000.0121), according to the 2000 Helsinki Declaration. All patients signed a written informed consent and all patients were at least 18 years-old at the time of enrollment.

Preeclampsia was defined as development of hypertension after 20 weeks (diastolic blood pressure \geq 90 mmHg and/or systolic blood pressure \geq 140 mmHg) with associated proteinuria (>300 mg in 24 hours) in a patient with previous normal blood pressure. Blood pressure criteria had to be met in two measurements taken at least 4 hours apart.

Inclusion criteria were singleton pregnancies admitted to the high-risk obstetrical unit for a period of at least 24 hours, gestational age between 24 and 33 weeks calculated from the date of the last menstrual period (LMP) and confirmed by first trimester ultrasonography.

Exclusion criteria were twin pregnancies, previous history of hypertension, chronic disorders such as diabetes, fetal malformations, maternal and/or fetal co-morbidities that could lead to early pregnancy interruption (e.g. intrauterine fetal demise, HELLP syndrome, severe renal insufficiency, reverse diastolic blood flow in the umbilical artery, reversal of flow during atrial contraction in the ductus venosus, severe oligohydramnios, and a biophysical profile < 6/10). Additional exclusion criteria were: use of magnesium sulfate, erythromycin, ketoconazole, itraconazole, antiretroviral agents or any other medication that could interact with sildenafil. Patients using any anti-hypertensive medication other than alpha-methyldopa were also excluded.

Patients were assigned to either a treatment of a placebo group based on blocked randomization with sealed opaque envelopes. Oral sildenafil citrate 50 mg (Pfizer, Guarulhos, SP, Brazil) or identical placebo capsules were dispensed by the hospital pharmacy. Sildenafil citrate dose was chosen based on safety profile and favorable results from prior studies.¹⁵⁻¹⁷

Body mass index was defined as maternal weight divided by maternal height squared and reported in kilograms per squared meter (Kg/m²).

Doppler velocimetry of the uterine, umbilical and middle cerebral arteries was performed using a Toshiba Xario SSA_660A scanner (Otawara, Tochigi, Japan) equipped with a 3.5 MHz convex transducer. Patients were examined in semi-Fowler position, during a period of absent fetal movements and/or breathing. Blood flow was interrogated on the ascending branches of the right and left uterine arteries at the point of apparent crossing with the external iliac arteries. Umbilical blood flow was interrogated on a free loop of umbilical cord. The middle cerebral artery was interrogated on an axial section of the fetal brain, at the level of the circle of Willis.

Doppler sample gate was adjusted according to vessel diameter. The insonation angle was kept as close to zero as possible. Angle correction was not used. Each sequence of measurements was obtained in triplicate during each examination and the results averaged. A minimum of six uniform Doppler waveforms were measured. The pulsatility index was automatically calculated by the equipment. The same operator performed all Doppler examinations. Comparison between Doppler measurements was performed between the exam performed on the day before randomization and the exam performed 24 hours after the beginning of treatment with sildenafil citrate or placebo.

Maternal arterial blood pressure was measured using a mercury column sphygmomanometer, always on the left arm, with the patient sitting and with the fourth Korotkoff's sound used to determine diastolic blood pressure. Blood pressure measurements were obtained routinely every 4 hours. Mean arterial blood pressure (MAP) [diastolic blood pressure + 1/3 (systolic pressure – diastolic pressure)] was used for comparisons between the average MAP 24 hours prior to and 24 hours after randomization.

Intrauterine growth restriction (IUGR) was defined as an estimated fetal weight < 10th percentile.

Most patients received alpha-methyldopa (500 to 1500 mg/day), with an additional beta-blocker agent (pindolol 10 to 30 mg/day) as required for clinical management. Endovenous hydralazine was used when a rapid action anti-hypertensive medication was deemed necessary. Betamethasone (two doses of 12 mg IM 24h apart) was prescribed only in cases of anticipated delivery within 72 hours.

Decision to deliver the fetus by the perinatology team was based on local criteria. Before 34 weeks, our protocol is to deliver only in case of severely abnormal antenatal testing (reverse diastolic blood flow in the umbilical artery, reversal of flow during atrial contraction in the ductus venosus, severe oligohydramnios (MVP < 2 cm) or biophysical profile < 6/10) or for maternal indications (failure to achieve satisfactory blood pressure control after reaching maximum dosage of anti-hypertensive agents, progressive deterioration of renal function with creatinine > 2 mg/dL, eclampsia, neurological impairment or HELLP syndrome). After 34 weeks, delivery was also indicated in case of diastolic blood pressure ≥ 110 mmHg and/or systolic blood pressure ≥ 160 mmHg and/or proteinuria > 5 g in 24 hours).

Perinatal outcome measures included birth weight and Apgar scores. All live neonates underwent a scheduled consultation 30 to 40 days after hospital discharge.

Independent data and safety and monitoring was provided the hospital's Division of Pharmacovigilance. Results were monitored at each 20 deliveries. It was pre-established that the study would be interrupted in case outcomes with sildenafil citrate were significantly worse than those with placebo.

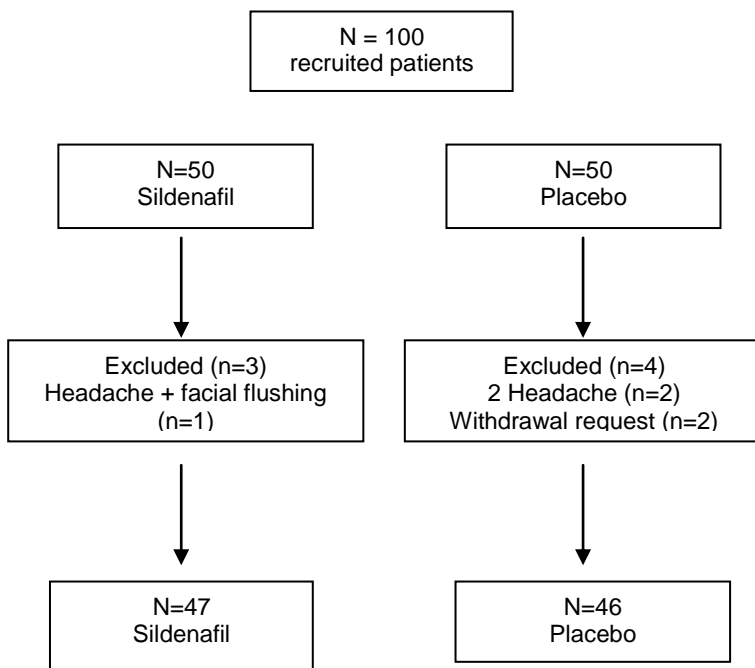
A power analysis determined that 26 patients in each group would need to be enrolled to detect a 0.16 change in umbilical artery pulsatility index with 80% power and alpha of 0.05. The power analysis also estimated that in order to detect a variation of 5 days in pregnancy duration with 80% power and alpha of 0.05, 41 patients in each group would have to be enrolled.²

Data was analyzed according to intention to treat. Categorical variables were compared by χ^2 test. Continuous variables were analyzed by Student t test. A P value <0.05 was considered significant. The pulsatility indices of the uterine, umbilical, and middle cerebral arteries were normalized for gestational age using Z-scores. Paired Z-scores were then compared using ANOVA. Statistical analysis was performed using SPSS 20.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

One hundred singleton pregnancies were invited to participate in the study. Four subjects asked to withdraw from the study before delivery (two in each group) due to feeling unsecure to participate in a research project with placebo. Another three patients were excluded before the end of the study: one in the sildenafil citrate group due to severe headache and facial flushing, and two in the placebo group, due to severe headaches. These seven women consented that their data be analyzed according to intention-to-treat.

Figure 1. Study progress chart



Baseline characteristics were not significantly different between the two groups (Table 1). There was no difference in the severity of preeclampsia.

Table 1. Baseline and demographic characteristics.

Characteristic	Sildenafil (n=50)	Placebo (n=50)	<i>P</i>
Maternal age (years)	25.3 ± 5.4	26.4 ± 6.1	.48
Nulliparity	29 (58.0%)	27 (54.0%)	.68
Non-Caucasian ethnicity	5 (10.0%)	6 (12.0%)	.75
BMI	28.6 ± 4.3	30.2 ± 5.1	.22
Smokers	6 (12.0%)	8 (16.0%)	.56
Previous preeclampsia	7 (14.0%)	9 (18.0%)	.58
Proteinuria (g/24 hours)	1.2 ± 2.0	1.5 ± 1.8	.32
IUGR	31 (62.0%)	28 (56.0%)	.54
Gestational age (weeks)	29.1 ± 2.1	30.2 ± 2.4	.19
Systolic blood pressure (mmHg)	164 ± 14	158 ± 13	.34
Diastolic blood pressure (mmHg)	102 ± 8	98 ± 9	.38
Anti-hypertensive use	14 (28.0%)	16 (32.0%)	.66

Data for maternal age, BMI, proteinuria, systolic blood pressure, and diastolic blood pressure are reported as mean ± SD. Data for nulliparity, non-Caucasian ethnicity, smoking, previous history of preeclampsia, IUGR and anti-hypertensive use are reported as n(%). Analysis based on intention to treat.

Clinical results

All fetuses were delivered based on clinical criteria shown in Table 2.

Table 2. Delivery indications.

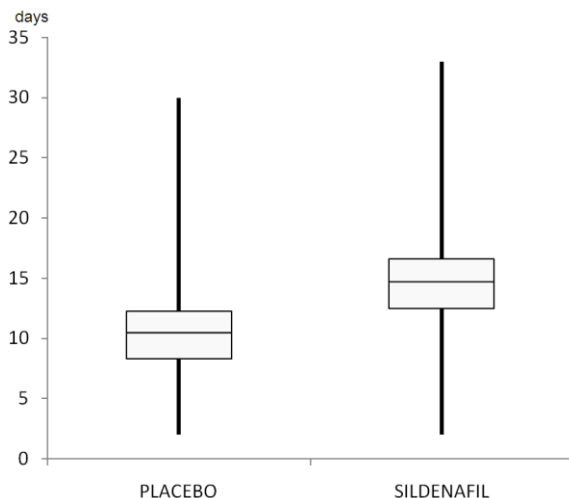
Indication	Sildenafil (n=50)	Placebo (n=50)	<i>P</i>
Fetal distress	13 (26%)	17 (34%)	.38
Maternal laboratory abnormalities*	12 (24%)	14 (28%)	.65
Maternal symptoms	13 (26%)	16 (32%)	.51
Worsening blood pressure	11 (22%)	15 (30%)	.36
After 34 weeks	16 (32%)	11 (22%)	.26
Eclampsia	2 (4%)	3 (6%)	.64
Placental abruption	2 (4%)	1 (2%)	.56
Maternal cardiac failure	0 (0%)	1 (2%)	.31

* creatinine > 2 mg/dL, thrombocytopenia or elevated liver enzymes

Analysis based on intention to treat

Time interval between randomization and delivery was, on average 4.01 days longer for the patients treated with sildenafil citrate when compared to placebo (14.4, 95% CI 12.5-16.59 vs 10.39, 95% CI 8.35-12.32) (Figure 2).

Figure 1. Mean time between randomization and delivery (mean \pm SD). Sildenafil citrate (N=50), placebo (n=50). Analysis based on intention-to-treat, $p = 0.008$.



Need for additional anti-hypertensive drug or an increase in the initial dosage of alpha-methyldopa after randomization was higher in the placebo group [58% (29/50) vs. 32% (16/50), $p < 0.001$].

There was no difference regarding the use of steroids before birth between the groups [84% (42/50) for sildenafil citrate vs 80% (40/50) for placebo, $p = .6$]. There was also difference between delivery route between groups with 84% (42/50) of cesarean sections in the sildenafil citrate group and 88% (44/50) in the control group ($p = .56$).

Hemodynamic results

Resistance to blood flow in the uterine and umbilical arteries was significantly lower in patients treated with sildenafil citrate. There was no difference in resistance to blood flow in the middle cerebral artery (Table 3).

Table 3. Pulsatility index of the uterine, umbilical, and middle cerebral arteries obtained 24 hours before and 24 hours after administration of sildenafil citrate or placebo.

Group	Artery	Before		After		P
		PI	z-score	PI	z-score	
Sildenafil	Uterine	2.04±0.15	2.77±0.71	1.58 ± 0.15	2.25±.61	<0.001
	Umbilical	1.46±0.12	3.01±0.48	1.19±0.17	1.81±0.60	<0.001
	MCA	1.44±0.11	1.55±0.35	1.58±0.16	1.48±0.52	.38
Placebo	Uterine	1.99±0.17	2.77±0.67	1.97±0.16	1.97±0.16	.42
	Umbilical	1.40±0.14	2.88±0.58	1.38±0.13	3.11±0.55	.31
	MCA	1.51±0.15	1.65±0.44	1.61±0.14	1.53±0.42	.28

Data reported as mean ± SD. Z-scores compared using ANOVA for paired measures. NS: not significant. Analysis based on intention-to-treat

Mean arterial pressure was significantly lower after administration of sildenafil when compared to patients receiving placebo (Table 4).

Table 4. Mean arterial blood pressure (MAP) obtained before and after administration of sildenafil citrate and placebo.

Group	MAP before	MAP after	Variation (%)	P
Sildenafil	116.4±5.1	100.3±5.6	-16.1 (13.8%)	<0.05
Placebo	114.7±6.5	110.6±6.2	-4.1 (3.6%)	.21

Adverse events

The medication was well tolerated. Adverse events are listed in Table 5. There was no difference in the incidence of adverse events between the groups. Only 3 patients were excluded from the study due to possible side effects (severe headache): one in the study group and 2 in the control group.

Table 5. Maternal adverse effects

Events	Sildenafil (n=50)	Placebo (n=50)	P
Headache	32 (64%)	28 (56%)	.41
Visual disturbances	10 (20%)	12 (24%)	.63
Epigastric pain	10 (20%)	11 (22%)	.81
Vomiting	8 (16%)	6 (12%)	.56
Neurological symptoms	3 (6%)	5 (10%)	.46
Eclampsia	1 (2%)	3 (6%)	.31
Diarrhea	2 (4%)	2 (4%)	1.0
Dizziness	2 (4%)	2 (4%)	1.0
HELLP syndrome	1 (2%)	3 (6%)	.31
Placental abruptio	2 (4%)	1 (2%)	.56
Postpartum hemorrhage	1 (2%)	1 (2%)	1.0

Analysis based on intention to treat.

Neonatal outcomes

There were no differences in neonatal outcomes between the two groups (Table 6).

Table 6. Comparison of neonatal outcomes

Outcomes	Sildenafil (n=50)	Placebo (n=50)	P
Gestational age (weeks)	32.3 ± 25	32.1 ± 2.7	.71
Birth weight (grams)	1565 ± 325	1410 ± 310	.21
5 minute Apgar < 7	4 (8%)	6 (12%)	.5
NICU admission	33 (66%)	37 (76%)	.38
Days in the NICU	18 ± 15.4	24 ± 16.6	.12
Respiratory distress	17 (34%)	20 (40%)	.53
IUGR	30 (60%)	29 (58%)	.84
Infection	11 (22%)	13 (26%)	.64
Intraventricular hemorrhage	3 (6%)	2 (4%)	.65
Thrombocytopenia	3 (6%)	2 (4%)	.65
Hypotension	2 (4%)	3 (6%)	.65
Necrotizing enterocolitis	2 (4%)	4 (8%)	.4
Hypoglycemia	4 (8%)	5 (10%)	.73
Pneumothorax	2 (4%)	2 (4%)	1.0
Convulsion	1 (2%)	0	.31
Neonatal demise	2 (4%)	4 (8%)	.4

Data presented as N(%) or mean ± SD as appropriate. Analysis based on intention-to-treat

There was no difference in any of the results if analysis was conducted according to intention-to-treat or after exclusion of the 7 patients who withdrawal consent or were excluded due to severe symptoms (headaches and/or facial flushing) that could be attributed to the medication.

Discussion

It has been shown that sildenafil citrate at a dose of 50 mg tid daily, can prolong pregnancy in pre-eclampsia, for an average of 4.01 days. Even though its just a few days, its more than enough to perform corticosteroids to accelerate fetal lung maturity. This extension may be due to better control of blood pressure as well as an improvement of maternal and fetal hemodynamics.

The time extension of the pregnancy was similar to the results of studies comparing the aggressive management with expectant pre-eclampsia.^{2,19} The study Samangaia, RA et al.¹⁵ demonstrated safety and decrease in blood pressure with sildenafil, most failed to demonstrate a prolongation of pregnancy. The difference in results can be explained by the smaller number of cases, the later onset of the medication (31.4 against 29.1 without), the lowest dose of medication (half of the patients with only 20mg tid daily) and possibly by difference in stopping criteria, which are more uniform in a single center.

This study shows que sildenafil citrate is efficient to decrease resistance to blood flow in the uteroplacental (uterine arteries) and fetoplacental (umbilical arteries) circulations, as well as maternal blood pressure mean, with no change in resistance to blood flow in the fetal cerebral circulation (cerebral artery middle).

The decrease in uterine and umbilical artery PIs with the use of sildenafil has been previously shown in case reports^{20,21} as well as in randomized double-blinded placebo-controlled study.²² According to previous studies, the PI of the middle cerebral artery remained unaltered following nitric oxide donors administration, suggesting that fetal cerebral arterial vascular tone is not dependent on external nitric oxide supply.^{10,11,23,24}

Reduction in MAP, without compromising uterine artery blood flow, suggests that sildenafil may be useful as antihypertensive drugs in the context of placental vascular insufficiency.

There was no difference between the groups regarding neonatal outcomes, despite hemodynamic improvement and time gain in pregnancy. These results can be explained by the insufficient number of cases for analysis of outcomes or the late onset of medication. We know that the pathophysiology of preeclampsia got their start well before the clinical demonstrations.²⁵ Therefore, the treatment time may have been insufficient for the improvement of maternal and fetal flow avoid endothelial dysfunction and the release of inflammatory factors.

The heterogeneity of cases reduces the potential to identify adverse effects. However, as there was no difference between placebo and sildenafil citrate as the maternal and events in the newborn baby, probably these were due to the underlying disease and prematurity. This demonstrates that the drug is well tolerated, the dose used. Other studies have also reached the same conclusion.^{11,15,26}

The results are promising, however studies with a larger number of patients, and an earlier start of medication are required. The evaluation of other PDE5 inhibitors should be performed, particularly with longer duration.

Acknowledgements

The entire support staff of the HU / UFSC. To Dr. Mario Julio Franco, Roberto Noya Galluzzo, Karine S. DaCorregio, Maria Salette M. Vieira and Sérgio Murilo Steffens. Special thanks to High Risk Pregnancy staff of the Regional Hospital Homero Miranda Gomes, who contributed to the routing of a large number of pregnant women to our service.

Conflicts of interest.

There is no conflict of interest involving any of the authors.

REFERENCES

1. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013;122:1122–31
2. Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Friedman SA. Aggressive versus expectant management of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks gestation: A randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171:818–822.

3. Haddad B, Deis S, Goffinet F, Paniel BJ, Cabrol D, Sibai BM. Maternal and perinatal outcomes during expectant management of 239 severe preeclamptic women between 24 and 33 weeks gestation. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190:1590–1597.
4. Manktelow BN, Seaton SE, Field DJ, Draper ES.. Population-based estimates of in-unit survival for very preterm infants. *Pediatrics* (2013) 131(2):e425–32.10.1542/peds.2012-2189
5. Robertson SA, Ingman WV, O'Leary S, Sharkey DJ, Tremellen KP. Transforming growth factor beta: a mediator of immune deviation in seminal plasma. *J Reprod Immunol* 2002; 57: 109–128.
6. Ness RB, Roberts JM. Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: a hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 175: 1365–1370.
7. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 499–506.
8. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002–2012.
9. Larmont JG, Poston L. Nitric oxide is involved in flow-induced dilation of isolated human small fetoplacental arteries. *Am J Obstet Gynecol* 1996; 174: 1056–1060.
10. Lees C, Valensise H, Black R, Harrington K, Byiers S, Romanini C, Campbell S. The efficacy and fetal–maternal cardiovascular effects of transdermal glyceryl trinitrate in the prophylaxis of preeclampsia and its complications: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12: 334–338.
11. Trapani A Jr, Gonçalves LF, Pires MMS. Transdermal nitroglycerin in patients with severe pre-eclampsia with placental insufficiency: effect on uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery resistance indices. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011; 38: 389–94.
12. Wareing M, Myers JE, O'Hara M, Baker PN. Sildenafil citrate (Viagra) enhances vasodilatation in fetal growth restriction. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(5):2550-5.
13. Cauli O, Herraiz S, Pellicer B, Pellicer A, Felipe V. Treatment with sildenafil prevents impairment of learning in rats born to pre-eclamptic mothers. *Neuroscience.* 2010; 171(2):506-12.
14. Coppage KH, Sun X, Baker RS, Clark KE. Expression of phosphodiesterase 5 in maternal and fetal sheep. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193(3 Pt 2):1005-10.
15. Samangaya RA, Mires G, Shennan A, Skillern L, Howe D, McLeod A, Baker PN. A randomised, double-blinded, placebo-controlled study of the phosphodiesterase type 5 inhibitor sildenafil for the treatment of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2009; 28: 369–82.
16. Trapani AJ, Gonçalves LF, Trapani TF, Franco MJ, Galluzzo RN, Pires MM. Comparison between transdermal nitroglycerin and sildenafil citrate in intrauterine growth restriction: effect on uterine, umbilical and fetal middle cerebral artery pulsatility index. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015, doi: 10.1002/uog.15673

17. Galie N, Ghofrani HA, Torbicki A, Barst RJ, Rubin LJ, Badesch D, et al. (2005) Sildenafil citrate therapy for pulmonary arterial hypertension. *N Engl J Med* 353: 2148–2157.
18. ACOG Practice bulletin no. 134: fetal growth restriction. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Obstet Gynecol.* 2013; 121(5):1122-33.
19. Vigil-De Gracia P, Reyes Tejada O, Calle Miñaca A, Tellez G, Chon VY, Herrarte E, Villar A, Ludmir J., “Expectant management of severe preeclampsia remote from term: a randomized, multicentre clinical trial: the MEXPRES Latin Study,” *Am J of Obstet Gynecol*, 2013, 209: 425-8
20. Panda S, Das A, Md Nowroz H. Sildenafil citrate in fetal growth restriction. *J Reprod Infertil.*2014; 15(3):168-9.
21. Lin TH, Su YN, Shih JC, Hsu HC, Lee CN. Resolution of high uterine artery pulsatility index and notching following sildenafil citrate treatment in a growth-restricted pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012; 40(5):609-10.
22. Dastjerdi MV, Hosseini S, Bayani L. Sildenafil citrate and uteroplacental perfusion in fetal growth restriction. *J Res Med Sci.*2012; 17(7):632-6.
23. Luzi G, Caserta G, Iammarino G, Clerici G, Di Renzo GC. Nitric oxide donors in pregnancy: fetal maternal hemodynamic effects induced in mild preeclampsia and threatened preterm labor. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 14: 101–109.
24. Cacciatore B, Halmesmaki E, Kaaja R, Teramo K, Ylikorkala O. Effects of transdermal nitroglycerin on impedance to flow in the uterine, umbilical, and fetal middle cerebral arteries in pregnancies complicated by preeclampsia and intrauterine growth retardation. *Am J Obstet Gynecol* 1998; 179:140–145.
25. Lain KY, Roberts JM. Contemporary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia. *JAMA* 2002;287:3183–6.
26. . von Dadelszen P, Dwinnell S, Magee LA, Carleton BC, Gruslin A, Lee B, Lim KI, Liston RM, Miller SP, Rurak D, Sherlock RL, Skoll MA, Wareing MM, Baker PN; Research into Advanced Fetal Diagnosis and Therapy (RAFT) Group. Sildenafil citrate therapy for severe early-onset intrauterine growth restriction. *BJOG.* 2011; 118(5):624-8.

APÊNDICE D – Termo de consentimento livre e esclarecido



HOSPITAL UNIVERSITÁRIO **PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA E PERINATAL DE INIBIDOR DA FOSFODIESTERASE TIPO 5 (CITRATO DE SILDENAFIL) EM GESTANTES COM PRÉ-ECLAMPSIA

INVESTIGADOR: Alberto Trapani Júnior

ORIENTADORA: Prof. Dra. Maria Marlene de Souza Pires

FOLHA DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Meu nome é Alberto Trapani Júnior e estou desenvolvendo esta pesquisa. Você está internada neste hospital com o diagnóstico de pré-eclampsia, que é uma doença que acomete gestantes, sendo que sua situação exige internação e cuidados especiais, com sua saúde e de seu filho. Você poderá receber medicações para manter sua pressão arterial sob controle.

Queremos estudar o efeito de um medicamento chamado SILDENAFIL, sobre o seu organismo e o seu bebê. Há evidências que ele, além de controlar a pressão, pode melhorar a circulação de sangue entre você e a placenta e entre o bebê e a placenta.

Para isso, vamos utilizar um exame chamado DOPPLER, que é realizado com o mesmo aparelho e de maneira semelhante ao ultrassom que é rotineiramente feito durante o pré-natal. Vamos fazer o exame no dia anterior do início da medicação e no segundo dia após o início do tratamento.

A participação no estudo não vai privá-la do tratamento adequado, nem influenciar nas condutas e decisão do momento adequado do parto.

Você receberá uma cápsula a cada 8 horas, que poderá conter o medicamento **ou** uma substância inerte (sem o remédio).

Alguns efeitos colaterais podem ocorrer, geralmente leve e moderados, que desaparecem após a parada da medicação. Não há registro de efeitos ruins sobre o feto.

O exame de DOPPLER dura aproximadamente 20 minutos e é o mais importante para avaliar a saúde do bebê na pré-eclampsia. É um exame seguro e sem desconforto. Não há casos conhecidos de qualquer problema, tanto para a mãe, quanto para o feto, com este exame.

Todas as informações serão confidenciais e só serão utilizadas neste trabalho.

Finalmente, você deve saber que terá total liberdade para recusar, a qualquer momento, sua participação neste estudo, e que isto não interferirá no tratamento seu ou de sua criança, e que estamos a sua disposição para responder a quaisquer dúvidas que você venha a ter. O telefone de contato é (48) 3721.9104.

PACIENTE

Reconheço que os procedimentos dessa pesquisa descritos, do qual eu tenho uma cópia, foram-me explicados. Adicionalmente, todas as minhas dúvidas foram respondidas, e fui informada das alternativas em relação à participação neste estudo. Os possíveis riscos e benefícios deste foram-me também explicados. Eu reconheço que posso, agora e/ou futuramente, realizar quaisquer perguntas em relação ao estudo e seus procedimentos. Foi-me, também, garantido o sigilo dos dados contidos nos relatórios médicos, meus e de meu bebê; e nenhuma informação que possa revelar minha identidade e de meu filho será liberada e/ou impressa sem minha permissão.

Eu compreendo que posso deixar o estudo a qualquer hora, se assim o desejar, e que isto não afetará a qualidade dos cuidados médicos, meu e de meu bebê, no Hospital Universitário.

Por estar de acordo, concordo em participar neste estudo.

Eu, _____, RG nº _____ declaro ter sido informado e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

ASSINATURA:

Paciente _____

Pesquisador: _____

Testemunha: _____

Florianópolis, ____ de _____ de _____

INVESTIGADOR: Alberto Trapani Júnior

ORIENTADORA: Prof. Dra. Maria Marlene de Souza Pires

Endereço: Campus Universitário, Universidade Federal de Santa Catarina, Hospital Universitário, Divisão de Tocoginecologia. Agrônoma, Florianópolis, SC. CEP

88040.900 fone: 48.3721.0194

ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA E PERINATAL DE INIBIDORES DA FOSFODIESTERASE TIPO 5 NA PRÉ-ECLAMPSIA

Pesquisador: ALBERTO TRAPANI JUNIOR

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

Versão: 2

CAAE: 01716812.9.0000.0121

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Catarina

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 271.404

Data da Relatoria: 13/05/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um Projeto de Tese de Doutorado do Programa de Pós Graduação em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina UFSC intitulado AVALIAÇÃO HEMODINÂMICA E PERINATAL DE INIBIDORES DA FOSFODIESTERASE TIPO 5 NA PRÉ-ECLAMPSIA que utilizará a metodologia de Ensaio clínico, randomizado e duplo cego, realizado em gestantes com pré-eclampsia, internadas na maternidade do HU/UFSC. A hipótese principal é que o citrato de sildenafil possa melhorar o perfil hemodinâmico no território placentário, com boa tolerabilidade. A segunda hipótese seria que esta melhora poderia permitir o prolongamento de alguns dias da gravidez, permitindo melhores resultados perinatais.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a resposta hemodinâmica materna com o uso de inibidor da fosfodiesterase tipo 5 (citrato de sildenafil) em gestantes com pré eclampsia, pelo exame de dopplervelocimetria.

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima

Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-900

UF: SC **Município:** FLORIANÓPOLIS

Telefone: (48)3721-9208

Fax: (48)3721-9898

E-mail: cep@reitoria.ufsc.br

Continuação do Parecer: 271.404

Objetivo Secundário:

Avaliar a evolução da pressão arterial média no grupos. Avaliar a necessidade de outros anti hipertensivos. Avaliar o tempo de prolongamento da gravidez. Avaliar o ganho de peso fetal. Avaliar efeitos colaterais. Avaliar os resultados neonatais (APGAR, peso, pH sangue do cordão, peso da placenta, complicações

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Em relação aos riscos o pesquisador declara como Riscos que o estudo não vai modificar a assistência prevista as gestantes, os possíveis riscos estão associados as reações adversas aos medicamentos estudados, que são reversíveis e de intensidade leve a moderada: Cefaléia, rubor, tontura, dispepsia, congestão nasal, alterações visuais leves e transitório, predominantemente distorção de cores, sensibilidade aumentada à luz ou visão turva.

Benefícios:

A comprovação que os medicamentos melhoram o fluxo nas artérias estudadas, pode oferecer uma opção terapêutica para as gestantes com pré-eclâmpsia e insuficiência placentária. A prorrogação da gravidez pode possibilitar uma melhora nos resultados neonatais, com menor mortalidade, menos tempo de internação em UTI neonatal e, por consequência, mais economia. A conduta expectante na pré eclâmpsia grave, num centro terciário, em gestantes de 24 a 33 semanas é associado a melhores resultados perinatais, com mínimos riscos para a mãe. A importância de um medicamento para o tratamento da pré-eclâmpsia é clara, contudo não temos nenhum fármaco sobrevivência, sem efeitos fetotóxicos. De acordo com os resultados hemodinâmicos, o citrato de sildenafil tem um efeito significativo sobre o índice de resistência na artéria uterina na pré-eclâmpsia, uma vez que restaura os valores normais. (22) Também com um modelo animal, Cauli et. avaliou o comprometimento cognitivo em ratos nascidos de mães com pré-eclâmpsia. Mostrou que a capacidade de aprendizagem e a atividade motora

menos tempo de internação em UTI neonatal e, por consequência, mais economia. A conduta expectante na pré eclâmpsia grave, num centro terciário, em gestantes de 24 a 33 semanas é associado a melhores resultados perinatais, com mínimos riscos para a mãe. A importância de um medicamento para o tratamento da pré-eclâmpsia é clara, contudo não temos nenhum fármaco

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima
Bairro: Trindade CEP: 88.040-900
UF: SC Município: FLORIANÓPOLIS
Telefone: (48)3721-9208 Fax: (48)3721-9898 E-mail: cep@reitoria.ufsc.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA CATARINA - UFSC**

Constituição do Parecer: 271.404

sobrevivência, sem efeitos fetotóxicos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto está apresentado de forma fundamentada teórica e metodologicamente demonstrando condições para ser executado. O projeto descreve de forma exemplar todas as medidas de segurança previstas na DH.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O pesquisador apresentou toda a documentação exigida para submissão no CEP/SH UFSC como Projeto, Realatório, Folha de Rosto, Termo de Declaração Instituição, Cronograma, Orçamento, TCLE.

Recomendações:

r

Recomendo que o TCLE seja escrito de forma mais clara e objetiva tenha o nome do pesquisador principal e responsável com nome e email, na parte do termo de escarcçamento use a palavra participante em vez de paciente.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Concluo estabelecendo que o pesquisador atenda as recomendações do Relator para objetivar melhor a apresentação do TCLE de acordo com a Portaria 196

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

FLORIANOPOLIS, 14 de Maio de 2013

Assinador por:
Washington Portela de Souza
(Coordenador)

Endereço: Campus Universitário Reitor João David Ferreira Lima
Bairro: Trindade **CEP:** 88.040-900
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3721-9208 **Fax:** (48)3721-9898 **E-mail:** cep@reitoria.ufsc.br